

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MANOELA ESTEFÂNEA BOFF ZORTÉA GUIDOLIN

**CARACTERIZAÇÃO DA ESTRUTURA FINA DO AMIDO DE SEMENTES DE  
*Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze (PINHÃO) E PRODUÇÃO DE  
EXTRUSADOS**

CURITIBA

2016

MANOELA ESTEFÂNEA BOFF ZORTÉA GUIDOLIN

**CARACTERIZAÇÃO DA ESTRUTURA FINA DO AMIDO DE SEMENTES DE  
*Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze (PINHÃO) E PRODUÇÃO DE  
EXTRUSADOS**

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Engenharia de Alimentos, no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Agnes de Paula Scheer

Coorientador: Prof. Dr. Ivo Mottin Demiate

CURITIBA

2016

Guidolin, Manoela Estefânea Boff Zortéa  
Caracterização da estrutura fina do amido de sementes de  
*Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze (Pinhão) e produção e  
extrusados / Manoela Estefânea Boff Zortéa Guidolin. – Curitiba,  
2016.

157 f. : il.; tabs.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de  
Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de  
Alimentos.

Orientadora: Agnes de Paula Scheer

Coorientador: Ivo Mottin Demiate

Bibliografia: p. 136-154

1. Pinheiro do Paraná. 2. Pinhão. 3. Plásticos - Extrusão. I.  
Scheer, Agnes de Paula. II. Demiate, Ivo Mottin. III. Título.


CDD 641.5

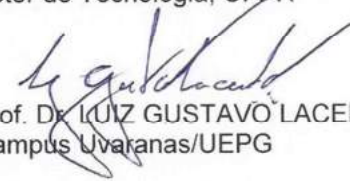
MANOELA ESTEFÂNEA BOFF ZORTÉA GUIDOLIN

**CARACTERIZAÇÃO DA ESTRUTURA FINA DO AMIDO DE SEMENTES DE  
*Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze (PINHÃO) E PRODUÇÃO DE  
EXTRUSADOS**

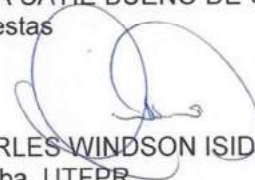
Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor  
no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, da  
Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos  
professores:

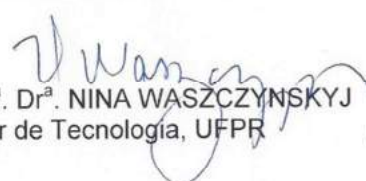
Orientadora:

  
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. AGNES DE PAULA SCHEER  
Setor de Tecnologia, UFPR

  
Prof. Dr. LUIZ GUSTAVO LACERDA  
Campus Uvaçaras/UEPG

  
Dr.<sup>a</sup>. ROSSANA CATIE BUENO DE GODOY  
Embrapa Florestas

  
Prof. Dr. CHARLES WINDSON ISIDORO HAMINIUK  
Campus Curitiba, UTFPR

  
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. NINA WASZCZYŃSKYJ  
Setor de Tecnologia, UFPR

Curitiba, 31 de agosto de 2016.



Dedico este trabalho ao meu marido Rodrigo e à minha mãe Vera,  
com todo meu amor e carinho.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente à Deus e Nossa Senhora pela vida, bênção e proteção.

Ao meu marido Rodrigo Guidolin pelo amor, incentivo, compreensão, paciência, carinho, por apoiar meus sonhos e estar sempre ao meu lado.

À minha família, em especial à minha mãe Vera, por todo amor e incentivo em todos os momentos; e aos meus irmãos Tibe, Deca e Guga que são meus maiores orgulho e inspiração.

À minha orientadora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Agnes de Paula Scheer, pela oportunidade, dedicação, confiança e conselhos na construção da minha vida acadêmica e a quem eu tenho sincera admiração.

Ao professor, co-orientador e amigo Dr. Ivo Mottin Demiate, pela orientação, amizade, dedicação, conselhos e principalmente por proporcionar e sempre incentivar meu aprendizado acadêmico e crescimento científico. Agradeço por me fazer olhar sempre adiante, mesmo frente às maiores adversidades.

À Rossana Catie B. de Godoy pela amizade, conselhos e oportunidade de realização deste trabalho junto à Embrapa.

Ao Pesquisador Carlos W. P. de Carvalho pela disponibilidade, auxílio e orientação na parte de extrusão realizada neste trabalho.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Jay-lin Jane e ao Dr. David Grewell pela oportunidade de me receberem nos Estados Unidos e por todos os ensinamentos.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Nina Waszczyński pelo auxílio na realização do Projeto Sensorial para o Comitê de Ética da UFPR.

Aos meus queridos amigos Luana, Helayne, Gerson, Anderson, Vânia e Melissa por toda amizade e grande ajuda em todos os momentos que precisei.

Aos meus amigos Thiago, Carol, Sarah, Rafael, Dani, Fer, Marcelo, Acácio, Fabi e Raquel, que participaram de alguma forma desta história e que tive a oportunidade de dividir alegrias, angústias e ótimas conversas.

Aos amigos do Sanduíche: Thaís, Leandro “ma frende”, Marcelo, Tamires, Maurício, Grazi e Anderson e os mineiros “Isabela mais Fabrício”, que vão morar pra sempre em meu coração.

Ao secretário Paulo Krainski pela assistência com as questões burocráticas e os vários puxões de orelha.

Aos estagiários da Embrapa pelo auxílio durante o doutorado.

À Embrapa pelo fornecimento dos pinhões, pela oportunidade e todo apoio para realização do processo de extrusão.

Às empresas Givaudan e Duas Rodas pela doação dos aromas para realização dos experimentos.

Aos Professores membros da banca por aceitarem avaliar o trabalho e contribuírem com sugestões.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná pela realização dos ensaios de microscopia eletrônica das amostras.

Ao PPGEAL pela oportunidade de realizar o doutorado.

À Universidade Federal do Paraná, à Universidade Estadual de Ponta Grossa, à *Iowa State University* pela infraestrutura disponibilizada.

À CAPES pelas bolsas de estudos concedidas no Brasil e nos Estados Unidos (PDSE BEX 10199/14-4).

Aos demais amigos e colegas que contribuíram de alguma forma na realização desse trabalho, meu muito obrigada!

"Cada um que passa em nossa vida, *passa sozinho, mas não vai só, nem nos deixa só*; deixa um pouquinho de si e leva um pouco de nós."

*Antoine de Saint-Exupéry*

## RESUMO

A *Araucaria angustifolia* é uma planta gimnosperma conhecida como pinheiro do Paraná ou simplesmente Araucária, cujas sementes popularmente apreciadas e consumidas na América do Sul são conhecidas por pinhão. Tendo em vista o risco de extinção da espécie, uma das estratégias de incentivo à perpetuação ou à manutenção dessa espécie seria a agregação de valor ao pinhão a partir de sua industrialização. Neste contexto, um dos processos industriais que tem se mostrado eficiente na obtenção de produtos alimentícios é o cozimento por extrusão, principalmente no processamento de matérias-primas amiláceas como é o caso do pinhão. Este trabalho teve como objetivo estudar a estrutura do amido de pinhão e a influência dos parâmetros de processo do processamento da farinha destas sementes por extrusão termoplástica. Amidos de pinhão de diferentes acessos e coletados em diferentes períodos foram extraídos, caracterizados, comparados, e suas estruturas e propriedades funcionais foram correlacionadas. Este estudo incluiu a determinação de teor de amilose aparente, massa molar ( $M_w$ ) e raio de giro ( $R_z$ ) da amilopectina utilizando *HPSEC-MALLS-RI*, fracionamento por cromatografia de permeação em gel (*GPC*), caracterização dos comprimentos e distribuição das cadeias ramificadas de amilopectina por eletroforese capilar de fluorescência assistida (*FACE*), propriedades térmicas, viscoamilográficas, de digestibilidade *in vitro*, de gelatinização e retrogradação, solubilidade, poder de inchamento e claridade de pasta. A farinha das sementes foi processada em uma extrusora de parafuso único variando-se o teor de umidade, a velocidade de rotação do parafuso e a temperatura da terceira zona de aquecimento, obtendo-se extrusados expandidos. As propriedades funcionais analisadas nos produtos foram: índices de expansão, textura instrumental, cor, hidratação, viscoamilográficas e digestibilidade *in vitro*. Além disso, esses produtos na forma de biscoitos foram avaliados sensorialmente quanto à aceitação. Os resultados mostraram que o amido de pinhão é formado em média por 22 % de amilose, possui maiores proporções de cadeias de amilopectina médias curtas (DP 13-24), possui massa molar média de  $3,37 \cdot 10^8$  g.mol<sup>-1</sup>, raio de giro de 276,7 nm, e ainda, apresenta uma quantidade considerável de amido lentamente digerido (ALD) e amido resistente (AR). As diferenças apresentadas entre as amostras de amido de pinhão tanto nas propriedades estruturais quanto nas funcionais são decorrentes da proveniência, por serem de diferentes acessos, e não por serem colhidos em períodos distintos. As condições operacionais de extrusão afetaram significativamente os índices de expansão (IES e IEV), os parâmetros de textura ( $F_{sr}$ ,  $F_c$ ,  $W_c$ ) e as características de cor ( $L$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  e  $\Delta E$ ) dos produtos expandidos. A umidade da matéria-prima para extrusão foi o que exerceu efeito mais pronunciado sobre os parâmetros analisados. Os biscoitos extrusados apresentaram boa aceitação pelos consumidores. As amostras mais bem aceitas pelos consumidores foram as que apresentaram maior índice de expansão e crocância. Este estudo torna-se útil para um maior entendimento da estrutura e aplicação do pinhão no desenvolvimento de novos produtos, tornando-o atrativo para a comercialização industrial.

Palavras-chave: Pinheiro do Paraná. Semente. Amido. Extrusão termoplástica. *Snacks*.

## ABSTRACT

*Araucaria angustifolia* is a gymnosperm plant known as Parana pine or simply Araucaria whose seeds popularly appreciated and consumed in South America are known as *pinhão*. In view of the risk of species extinction, one of the perpetuation and incentive strategies or maintenance of this species would be to add value to the *pinhão* from its industrialization. In this context, extrusion cooking is a potential alternative for preparing extrudates of *pinhão* as a food product, mostly on processing of amylaceous raw materials such is the case of *pinhão*. This work aimed to study the structure of *pinhão* starch and influence of process parameters on extrusion of flour from these seeds. *Pinhão* starches from different accessions and collected at different times were extracted, characterized, compared and their structure features and functional properties were correlated. This study included amylose content, molecular weight ( $M_w$ ) and gyration radius of amylopectin by using HPSEC-MALLS-RI, fractionation by gel permeation chromatography (GPC), amylopectin branch chain-length distribution by fluorophore-assisted capillary electrophoresis (FACE), thermal and pasting properties, *in vitro* digestibility, gelatinization and retrogradation, solubility, swelling power and paste clarity. Brazilian pine seeds flour was processed in a single screw extruder varying the moisture content, screw speed and temperature at third zone, obtaining expanded extrudates. The functional properties of the products were analyzed: the expansion index, instrumental texture, color, hydration, viscoamylographic properties and *in vitro* digestibility. In addition, these products on snacks form were investigated regarding the acceptance. *Pinhão* starches presented on average 22% of amylose, a higher proportion of amylopectin of medium-short branch-chains (DP 13-24), weight-average molecular mass ( $M_w$ ) of  $3.0\text{-}3.9 \times 10^8$  g/mol, z-average radius of gyration ( $R_z$ ) of 270-283 nm and also, *pinhão* starch has considerable levels of slowly digestible starch (SDS) and resistant starch (RS). The results showed that it was not the time to harvest that influenced significantly both the structural features as the functional properties to the *pinhão* starch, but because they come from different accessions. The extrusion operating conditions affected significantly the expansion and volumetric indexes (SEI and VEI), the texture ( $F_{sr}$ ,  $F_c$ ,  $W_c$ ) and color parameters ( $L$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  e  $\Delta E$ ) of expanded products. The moisture content of raw material was what generated more pronounced effect on the parameters analyzed. *Pinhão* snacks sensorially analyzed were approved by the consumers. The samples more accepted by consumers were those with highest expansion index and crispness. This study is useful for a better understanding of the structure and implementation of the *pinhão* on development of new products, becoming it a food promising for industrial commercialization.

Keywords: Brazilian pine seeds. Starch. Extrusion cooking. Snacks.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

QUADRO 1 - TAXONOMIA DA <i>Araucaria angustifolia</i> .....	25
QUADRO 2 - PRODUÇÃO E VBP DE PINHÃO NO ESTADO DO PARANÁ.....	30
FIGURA 1 - ESTRÓBILOS MASCULINOS E FEMININOS DA <i>Araucaria angustifolia</i> .....	26
FIGURA 2 - A ARAUCÁRIA .....	26
FIGURA 3 - ÁREA DE OCORRÊNCIA DA <i>Araucaria angustifolia</i> .....	27
FIGURA 4 - CONSTITUIÇÃO DAS SEMENTES DE GIMNOSPERMAS .....	28
FIGURA 5 - FORMAS DE VISUALIZAÇÃO DO PINHÃO .....	29
FIGURA 6 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DE AMIDO DE DIFERENTES FONTES BOTÂNICAS .....	32
FIGURA 7 - ESTRUTURAS DA AMIOSE E AMILOPECTINA.....	33
FIGURA 8 - DIAGRAMA DA ESTRUTURA MOLECULAR DA AMILOPECTINA EM FORMA DE CACHOS (CLUSTERS) .....	34
FIGURA 9 - SEMENTES DE <i>Araucaria angustifolia</i> .....	43
FIGURA 10 – DIAGRAMA DE FLUXO DO PREPARO DA MATÉRIA-PRIMA PARA EXTRUSÃO.....	44
FIGURA 11 - DESCASCADOR DE PINHÃO .....	45
FIGURA 12 – AMÊNDOA DE PINHÃO .....	46
FIGURA 13 - PARÂMETROS AVALIADOS EM UMA CURVA DE VISCOSIDADE TÍPICA DO RVA.....	56
FIGURA 14 - EXTRUSORA BRABENDER 19/20 DN (DUISBURG, ALEMANHA) UTILIZADA NA PRODUÇÃO DE EXTRUSADOS DE PINHÃO.....	62
FIGURA 15 - ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DA EXTRUSORA MONOROSCA UTILIZADA NO EXPERIMENTO.....	63
FIGURA 16 - CURVA DE FORÇAS DE COMPRESSÃO DE UM EXTRUSADO.....	67
FIGURA 17 - MEDIÇÃO DA DUREZA EM DIFERENTES REGIÕES DA AMÊNDOA DE PINHÃO .....	74
FIGURA 18 - DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DA PARTÍCULA DA FARINHA DE PINHÃO.....	77
FIGURA 19 - MICROGRAFIA DOS GRÂNULOS DE AMIDO DE PINHÃO (1-3 PRECOCES E 4-7 CICLO MÉDIO) OBTIDOS POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	78
FIGURA 20 - MICROGRAFIAS DE AMIDOS DE PINHÃO (1-3 PRECOCES E 4-7 CICLO MÉDIO) SEM (À ESQUERDA) E COM (À DIREITA) LUZ POLARIZADA COM AMPLIAÇÃO DE 400X.....	80
FIGURA 21 - DIFRATOGRAMAS DE RAIOS X DE AMOSTRAS DE AMIDO DE PINHÃO (1-3 PRECOCES E 4-7 CICLO MÉDIO).....	81

FIGURA 22 - PERFIL DE ELUIÇÃO POR <i>HPSEC-MALLS-RI</i> DE UMA DAS AMOSTRAS DE AMIDO DE PINHÃO.....	83
FIGURA 23 - PERFIS DE CROMATOGRAFIA DE PERMEAÇÃO EM GEL DE SEPHAROSE CL-2B DE AMIDOS DE PINHÃO (1-3 PRECOCES E 4-7 CICLO MÉDIO) .....	85
FIGURA 24 - PERFIS DE DISTRIBUIÇÃO DE COMPRIMENTO DE CADEIAS RAMIFICADAS DE AMILOPECTINAS DE AMIDOS PINHÃO (1-3 PRECOCES E 4-7 CICLO MÉDIO) .....	87
FIGURA 25 - SOLUBILIDADE E PODER DE INCHAMENTO DOS AMIDOS DE PINHÃO COM O AUMENTO DA TEMPERATURA.....	91
FIGURA 26 - PERFIL VISCOAMILOGRÁFICO DOS AMIDOS DE PINHÃO (1-7)....	93
FIGURA 27 - EXTRUSADOS DE PINHÃO OBTIDOS SOB DIFERENTES TRATAMENTOS .....	106
FIGURA 28 - EFEITO DA VARIAÇÃO DE UMIDADE, ROTAÇÃO E TEMPERATURA DE EXTRUSÃO DAS AMOSTRAS SOBRE O ÍNDICE DE EXPANSÃO SECCIONAL (IES) DOS EXTRUSADOS DE PINHÃO.....	107
FIGURA 29 - EFEITO DA VARIAÇÃO DE UMIDADE, ROTAÇÃO E TEMPERATURA DE EXTRUSÃO DAS AMOSTRAS SOBRE O ÍNDICE DE EXPANSÃO VOLUMÉTRICA (IEV) DOS EXTRUSADOS DE PINHÃO.....	107
FIGURA 30 - EFEITO DA VARIAÇÃO DE UMIDADE, ROTAÇÃO E TEMPERATURA DE EXTRUSÃO DAS AMOSTRAS SOBRE A FORÇA DE RUPTURA ESTRUTURAL DOS EXTRUSADOS DE PINHÃO .....	110
FIGURA 31 - EFEITO DA VARIAÇÃO DE UMIDADE, ROTAÇÃO E TEMPERATURA DE EXTRUSÃO DAS AMOSTRAS SOBRE A FORÇA DE COMPRESSÃO SOBRE OS EXTRUSADOS DE PINHÃO.....	111
FIGURA 32 - EFEITO DA VARIAÇÃO DE UMIDADE, ROTAÇÃO E TEMPERATURA DE EXTRUSÃO DAS AMOSTRAS SOBRE O TRABALHO DE COMPRESSÃO SOBRE OS EXTRUSADOS DE PINHÃO.....	111
FIGURA 33 - EFEITO DA VARIAÇÃO DE UMIDADE, ROTAÇÃO E TEMPERATURA DE EXTRUSÃO DAS AMOSTRAS SOBRE A LUMINOSIDADE DOS EXTRUSADOS DE PINHÃO .....	114
FIGURA 34 - EFEITO DA VARIAÇÃO DE UMIDADE, ROTAÇÃO E TEMPERATURA DE EXTRUSÃO DAS AMOSTRAS SOBRE O CROMA $a^*$ DOS EXTRUSADOS DE PINHÃO.....	114
FIGURA 35 - EFEITO DA VARIAÇÃO DE UMIDADE, ROTAÇÃO E TEMPERATURA DE EXTRUSÃO DAS AMOSTRAS SOBRE O CROMA $b^*$ DOS EXTRUSADOS DE PINHÃO.....	115
FIGURA 36 - EFEITO DA VARIAÇÃO DE UMIDADE, ROTAÇÃO E TEMPERATURA DE EXTRUSÃO DAS AMOSTRAS SOBRE A DIFERENÇA TOTAL DE COR DOS EXTRUSADOS DE PINHÃO .....	115
FIGURA 37 - PERFIL VISCOAMILOGRÁFICO DAS FARINHAS DE EXTRUSADOS DE PINHÃO.....	120
FIGURA 38 - PERFIL VISCOAMILOGRÁFICO DA FARINHA DE PINHÃO .....	120



FIGURA 39 - DISTRIBUIÇÃO DA FREQUÊNCIA NO CONSUMO DE <i>SNACKS</i> PELOS CONSUMIDORES DA SENSORIAL DOS <i>SNACKS</i> SABOR NATURAL DE PINHÃO.....	123
FIGURA 40 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DAS DIMENSÕES 1 E 2 DO MIP MOSTRANDO A POSIÇÃO DOS CONSUMIDORES EM RELAÇÃO À ACEITAÇÃO GLOBAL DOS <i>SNACKS</i> DE PINHÃO .....	126
FIGURA 41 - DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS DE RESPOSTAS DOS CONSUMIDORES QUANTO À DETECÇÃO DO SABOR DE PINHÃO PARA OS <i>SNACKS</i> SABOR NATURAL DE PINHÃO.....	127
FIGURA 42 - DISTRIBUIÇÃO DA FREQUÊNCIA NO CONSUMO DE <i>SNACKS</i> PELOS CONSUMIDORES DA SENSORIAL DOS <i>SNACKS</i> AROMATIZADOS COM SABORES SALGADOS .....	128
FIGURA 43 - DISTRIBUIÇÃO DA FREQUÊNCIA NO CONSUMO DE <i>SNACKS</i> PELOS CONSUMIDORES DA SENSORIAL DOS <i>SNACKS</i> AROMATIZADOS COM SABORES DOCES .....	131

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA SEMENTE <i>IN NATURA</i> DE <i>Araucaria angustifolia</i> .....	29
TABELA 2 - CLASSIFICAÇÃO DAS PRINCIPAIS TÉCNICAS DE ANÁLISES TÉRMICAS SEGUNDO O PARÂMETRO MEDIDO .....	36
TABELA 3 - NÍVEIS CODIFICADOS E REAIS DE UMIDADE (U), VELOCIDADE DE ROTAÇÃO (R) E TEMPERATURA (T) UTILIZADAS NO ENSAIO DE EXTRUSÃO.....	61
TABELA 4 - DELINEAMENTO EXPERIMENTAL UTILIZADO PARA O ESTUDO DO EFEITO DA UMIDADE DA MATÉRIA-PRIMA, VELOCIDADE DE ROTAÇÃO E TEMPERATURA DE EXTRUSÃO SOBRE A QUALIDADE DOS SNACKS .....	61
TABELA 5 - COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA AMÊNDOA DE PINHÕES <i>IN NATURA</i> E DA FARINHA DE PINHÃO.....	75
TABELA 6 - CONTEÚDO DE AMIOSE APARENTE DAS AMOSTRAS DE AMIDOS DE PINHÃO (1-3 PRECOCES E 4-7 CICLO MÉDIO).....	82
TABELA 7 - MASSA MOLAR ( $M_w$ ) E RAIO DE GIRO ( $R_z$ ) DOS AMIDOS DE PINHÃO.....	84
TABELA 8 - DISTRIBUIÇÃO DOS COMPRIMENTOS DE CADEIAS RAMIFICADAS DAS AMILOPECTINAS DE AMIDOS DE PINHÃO.....	86
TABELA 9 - PROPRIEDADES TÉRMICAS DOS GRÂNULOS DE AMIDO DE PINHÃO (1-3 PRECOCES E 4-7 CICLO MÉDIO) DURANTE A GELATINIZAÇÃO, DETERMINADAS POR CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC).....	88
TABELA 10 - TRANSIÇÕES TÉRMICAS DE DISSOCIAÇÃO DOS AMIDOS DE PINHÃO (1-3 PRECOCES E 4-7 CICLO MÉDIO) RETROGRADADOS, DETERMINADAS POR CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC) .....	88
TABELA 11 - VALORES MÉDIOS DA PORCENTAGEM DE ÁGUA LIBERADA DAS PASTAS DE AMIDOS DE PINHÃO .....	90
TABELA 12 - VALORES MÉDIOS DE SOLUBILIDADE E PODER DE INCHAMENTO DOS AMIDOS DE PINHÃO (1-3 PRECOCES E 4-7 CICLO MÉDIO) .....	91
TABELA 13 - VALORES MÉDIOS DA CLARIDADE DE PASTA DOS AMIDOS DE PINHÃO.....	92
TABELA 14 - PROPRIEDADES DE EMPASTAMENTO DOS AMIDOS DE PINHÃO (1-3 PRECOCES E 4-7 CICLO MÉDIO) DETERMINADAS POR VISCOAMILÓGRAFO RVA-4.....	93
TABELA 15 - CONTEÚDO DE ARD, ALD E AR NOS AMIDOS DE PINHÃO (1-3 PRECOCES E 4-7 CICLO MÉDIO).....	94
TABELA 16 - COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO DE PEARSON ENTRE CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO AMIDO DE PINHÃO.....	96

TABELA 17 - COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO DE PEARSON ENTRE PROPRIEDADES FUNCIONAIS, PROPRIEDADES DE EMPASTAMENTO E DE DIGESTIBILIDADE <i>IN VITRO</i> .....	97
TABELA 18 - ENERGIA MECÂNICA ESPECÍFICA DO PROCESSO, DENSIDADE APARENTE E ÍNDICES DE EXPANSÃO DOS EXTRUSADOS OBTIDOS .....	103
TABELA 19 - EFEITOS ESTIMADOS PARA ENERGIA MECÂNICA ESPECÍFICA.....	103
TABELA 20 - COEFICIENTES DE REGRESSÃO ESTIMADOS PARA OS ÍNDICES DE EXPANSÃO (MODELO $y_k = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3$ ) .....	105
TABELA 21 - RESULTADOS DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS EXTRUSADOS OBTIDOS.....	108
TABELA 22 - COEFICIENTES DE REGRESSÃO ESTIMADOS PARA AS PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS EXTRUSADOS OBTIDOS (MODELO $Y_k = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3$ ) .....	109
TABELA 23 - RESULTADO DA ANÁLISE DE COR DOS EXTRUSADOS OBTIDOS .....	112
TABELA 24 - COEFICIENTES DE REGRESSÃO ESTIMADOS PARA AS PROPRIEDADES DE COR DOS EXTRUSADOS OBTIDOS (MODELO $Y_k = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3$ ) .....	113
TABELA 25 - RESULTADOS DAS ANÁLISES DE ATIVIDADE DE ÁGUA E ÍNDICES DE ABSORÇÃO E SOLUBILIDADE EM ÁGUA DOS EXTRUSADOS OBTIDOS .....	116
TABELA 26 - CONTEÚDO DE ARD, ALD E AR NOS EXTRUSADOS DE PINHÃO.....	118
TABELA 27 - PROPRIEDADES DE EMPASTAMENTO DAS FARINHAS DE EXTRUSADOS DE PINHÃO (1-17) DETERMINADAS POR VISCOAMILÓGRAFO RVA-4.....	119
TABELA 28 - RESULTADOS DOS PARÂMETROS CONSIDERADOS PARA SELEÇÃO DE AMOSTRAS DE SNACKS DE PINHÃO .....	122
TABELA 29 - MÉDIAS OBTIDAS COM O TESTE DE ACEITAÇÃO EM RELAÇÃO À COR, AROMA, SABOR, TEXTURA E ACEITAÇÃO GLOBAL DOS SNACKS DE PINHÃO .....	124
TABELA 31 - RESULTADO DAS FREQUÊNCIAS DE RESPOSTAS NA PESQUISA DE COMPRA DE SNACKS SABOR NATURAL DE PINHÃO.....	127
TABELA 32 - RESULTADO DA ANOVA PARA O TESTE DE ACEITAÇÃO DOS SNACKS DE PINHÃO SABORES SALGADOS .....	129
TABELA 33 - TESTE DE TUKEY APLICADO ÀS AMOSTRAS NO TESTE DE ACEITAÇÃO DE SNACKS DE PINHÃO SABORES SALGADOS .....	129
TABELA 34 - RESULTADO DAS FREQUÊNCIAS DE RESPOSTAS NA PESQUISA DE COMPRA DE SNACKS DE PINHÃO SABORES SALGADOS .....	130

TABELA 35 - RESULTADO DA ANOVA PARA O TESTE DE ACEITAÇÃO DOS SNACKS DE PINHÃO SABORES DOCES.....	131
TABELA 36 - TESTE DE TUKEY APLICADO ÀS AMOSTRAS NO TESTE DE ACEITAÇÃO DOS SNACKS DE PINHÃO SABORES DOCES.....	132
TABELA 37 - RESULTADO DAS FREQUÊNCIAS DE RESPOSTA NA PESQUISA DE COMPRA DE SNACKS DE PINHÃO SABORES DOCES.....	132

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	- Associação Brasileira de Normas Técnicas
ACP	- Análise de Componentes Principais
AGU	- Unidades de glicose anidrida
ALD	- amido lentamente digerido
AMG	- amiloglucosidase
ANOVA	- análise de variância
AOAC	- <i>Association of Official Analytical Chemists</i>
APREMAVI	- Associação de Preservação do Meio Ambiente e da Vida
APTS	- ácido 8-amino-1,3,6 pirenossulfônico
AR	- amido resistente
ARD	- amido rapidamente digerido
<i>Aw</i>	- <i>water activity</i> (atividade de água)
bpm	- batimentos por minuto
b.s.	- base seca
BV	- <i>blue value</i>
CV	- coeficiente de variação
CHO	- carboidratos totais
CONAMA	- Conselho Nacional do Meio Ambiente
DCCR	- Delineamento central composto rotacional
DERAL	- Departamento de Economia Rural
DIL	- Análise termo-mecânica (dilatometria)
DMSO	- dimetil sulfóxido
DP	- <i>degree of polymerization</i>
dp	- desvio padrão
DSC	- <i>Differential scanning calorimetry</i>
DMA	- Análise dinâmico-mecânica
DTA	- Análise térmica diferencial
EGA	- Análise de gases envolvidos
EGD	- Detecção de gases envolvidos
Embrapa	- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EME	- Energia mecânica específica

EMF	- <i>Electric and Magnetic fields</i>
Euresta	- <i>European Flair Concertet Action on Resistant Starch</i>
FACE	- <i>Fluorophore-assisted cappilary electrophoresis</i>
GL	- graus de liberdade
GPC	- cromatografia de permeação em gel
HPSEC	- <i>High performance size exclusion chromatography</i>
IAA	- Índice de absorção em água
IEL	- Índice de expansão longitudinal
IES	- Índice de expansão seccional
IEV	- Índice de expansão volumétrica
IPEF	- Identificação de Espécies Florestais
ISA	- Índice de solubilidade em água
LQAA	- Laboratório de Química Analítica Aplicada
LTA	- Laboratório de Tecnologia de Alimentos
MALLS	- <i>Multi-angle laser light scattering</i>
MEV	- Microscópio eletrônico de varredura
MIP	- Mapa Interno de Preferência
nd	- valor não determinado
PF	- ponto de fusão
pH	- potencial hidrogeniônico
PI	- poder de inchamento
QM	- média dos quadrados
RI	- <i>Refractive index</i>
rpm	- rotações por minuto
RVA	- <i>Rapid Visco Analyzer</i>
SEAB	- Secretaria da Agricultura e Abastecimento
SQ	- soma dos quadrados
TG	- Termogravimetria
TCLE	- Termo de consentimento livre e esclarecido
UFPR	- Universidade Federal do Paraná
VBP	- Valor Bruto da Produção

## LISTA DE SÍMBOLOS

$a^*$	- cromaticidade sob um eixo de verde a vermelho
$b^*$	- cromaticidade sob um eixo de azul a amarelo
$\text{CaCl}_2$	- cloreto de cálcio
$F$	- número fatorial
$F_c$	- força de compressão
$F_{sr}$	- força específica de rupturas estruturais
$g$	- força gravitacional
$\text{HCl}$	- ácido clorídrico
$\text{I}_2$	- iodo
$k$	- número de variáveis independentes
$\text{KCl}$	- cloreto de potássio
$\text{KI}$	- iodeto de potássio
$\text{KOH}$	- hidróxido de potássio
$L$	- luminosidade ou brilho
$M$	- molaridade
$m/m$	- percentual massa-massa
$m/v$	- percentual massa-volume
$M_w$	- <i>molecular weight</i>
$N$	- normalidade
$\text{NaBH}_3\text{CN}$	- cianoborohidreto de sódio
$\text{NaCl}$	- cloreto de sódio
$\text{NaOH}$	- hidróxido de sódio
$N_{sr}$	- frequência de rupturas estruturais
$p$	- significância estatística
$r$	- coeficiente de correlação linear
$R^2$	- coeficiente de determinação
$R_n$	- quantidade de partículas retidas, rendimento
$R_z$	- <i>gyration radius</i>
$v/v$	- percentual volume-volume
$T_c$	- temperatura de conclusão
$T_p$	- temperatura de pico

$T_0$	- temperatura <i>onset</i>
$W_c$	- trabalho de crocância
$\alpha$	- níveis de variáveis axiais
$\Delta E$	- diferença total de cor
$\Delta H$	- variação de entalpia
$\rho$	- densidade aparente



## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	22
1.1	JUSTIFICATIVA.....	23
1.2	OBJETIVO GERAL.....	23
1.3	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	24
2.	REVISÃO DA LITERATURA .....	25
2.1	ARAUCÁRIA.....	25
2.2	PINHÃO .....	28
2.2.1	Produção de pinhão.....	30
2.3	AMIDO .....	31
2.3.1	Amilose e amilopectina.....	33
2.3.2	Propriedades do amido.....	36
2.3.2.1	Propriedades térmicas do amido .....	36
2.3.2.2	Propriedades viscoamilográficas do amido .....	37
2.3.3	Digestibilidade <i>in vitro</i> .....	38
2.4	EXTRUSÃO.....	39
2.5	ANÁLISE SENSORIAL.....	41
3.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	43
3.1	MATERIAIS .....	43
3.2	PREPARO DA MATÉRIA-PRIMA PARA EXTRUSÃO .....	44
3.3	CARACTERIZAÇÃO DO PINHÃO E DA MATÉRIA-PRIMA PARA EXTRUSÃO.....	45
3.4	EXTRAÇÃO E ANÁLISES DOS AMIDOS DE PINHÃO.....	47
3.4.1	Caracterização morfológica .....	48
3.4.1.1	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	48
3.4.1.2	Microscopia óptica .....	49
3.4.1.3	Difração de raios X .....	49
3.4.2	Caracterização estrutural.....	49
3.4.2.1	Determinação do conteúdo de amilose .....	50
3.4.2.2	Determinação da massa molar e raio de giro da amilopectina .....	50
3.4.2.3	Fracionamento por cromatografia de permeação em gel (GPC) .....	51
3.4.2.4	Distribuição dos comprimentos de cadeias ramificadas de amilopectina .....	52
3.4.3	Propriedades térmicas.....	53

3.4.3.1	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) .....	53
3.4.4	Gelatinização e retrogradação do gel.....	54
3.4.5	Solubilidade em água e poder de inchamento (PI).....	54
3.4.6	Claridade de pasta.....	55
3.4.7	Propriedades viscoamilográficas .....	55
3.4.8	Digestibilidade <i>in vitro</i> .....	56
3.4.8.1	Determinação do amido total.....	56
3.4.8.2	Determinação do amido resistente na matéria-prima e nos amidos.....	57
3.4.9	Análise estatística - amido de pinhão .....	59
3.5	EXTRUSÃO.....	60
3.5.1	Execução do planejamento .....	60
3.5.1.1	Acondicionamento da umidade .....	61
3.5.2	Ensaio de extrusão .....	62
3.5.2.1	Determinação da vazão.....	64
3.5.2.2	Determinação da energia mecânica específica (EME).....	64
3.6	ANÁLISES DOS EXTRUSADOS.....	65
3.6.1	Densidade aparente e propriedades de expansão .....	65
3.6.2	Propriedades mecânicas .....	66
3.6.3	Análise de cor.....	68
3.6.4	Atividade de água ( <i>water activity</i> - <i>A<sub>w</sub></i> ).....	68
3.6.5	Índice de absorção de água (IAA) e de solubilidade em água (ISA) .....	68
3.6.6	Amido total nos extrusados .....	69
3.6.7	Digestibilidade <i>in vitro</i> dos extrusados.....	69
3.6.8	Propriedades viscoamilográficas .....	70
3.6.9	Análise estatística - extrusados de pinhão .....	70
3.7	AROMATIZAÇÃO DOS EXTRUSADOS.....	71
3.7.1	Aromatização dos <i>snacks</i> salgados.....	71
3.7.2	Aromatização dos <i>snacks</i> doces .....	71
3.8	ANÁLISE SENSORIAL.....	72
3.8.1	Teste de aceitação .....	73
3.8.2	Análise estatística - análise sensorial.....	73
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	74
4.1	CARACTERIZAÇÃO DO PINHÃO E DA MATÉRIA-PRIMA PARA EXTRUSÃO.....	74

4.1.1	Composição centesimal.....	74
4.1.2	Distribuição granulométrica .....	76
4.2	AMIDO DE PINHÃO .....	77
4.2.1	Característica morfológica dos amidos de pinhão .....	77
4.2.2	Caracterização estrutural dos amidos de pinhão.....	82
4.2.2.1	Conteúdo de amilose aparente.....	82
4.2.2.2	Massa molar e raio de giro .....	83
4.2.2.3	Fracionamento por cromatografia de permeação em gel (GPC) .....	84
4.2.2.4	Distribuição do comprimento de cadeia ramificada de amilopectina dos amidos de pinhão .....	86
4.2.3	Propriedades térmicas dos amidos de pinhão.....	88
4.2.3.1	Calorimetria exploratória diferencial (DSC) .....	88
4.2.4	Gelatinização e retrogradação do gel.....	90
4.2.5	Solubilidade em água e poder de inchamento dos amidos de pinhão.....	90
4.2.6	Claridade de pasta dos amidos de pinhão.....	92
4.2.7	Propriedades viscoamilográficas dos amidos de pinhão .....	92
4.2.8	Digestibilidade <i>in vitro</i> dos amidos de pinhão.....	94
4.2.9	Correlações entre estrutura molecular e propriedades funcionais do amido de pinhão .....	96
4.3	EXTRUSADOS DE PINHÃO .....	102
4.3.1	Rendimento do processo de extrusão termoplástica .....	102
4.3.2	Caracterização dos extrusados .....	102
4.3.3	Energia mecânica específica e índices de expansão .....	102
4.3.4	Propriedades mecânicas .....	108
4.3.5	Análise de cor .....	111
4.3.6	Análises de atividade de água ( <i>A<sub>w</sub></i> ) e dos índices de absorção em água ( <i>IAA</i> ) e de solubilidade em água ( <i>ISA</i> ).....	115
4.3.7	Digestibilidade <i>in vitro</i> dos extrusados de pinhão.....	117
4.3.8	Propriedades viscoamilográficas .....	119
4.4	ANÁLISE SENSORIAL.....	121
4.4.1	Análise sensorial dos <i>snacks</i> sabor natural de pinhão .....	121
4.4.1.1	Perfil dos consumidores na análise sensorial dos <i>snacks</i> sabor natural de pinhão.....	123
4.4.1.2	Teste de aceitação dos <i>snacks</i> sabor natural de pinhão.....	123

4.4.2	Análise sensorial dos <i>snacks</i> aromatizados com sabores salgados .....	127
4.4.2.1	Perfil dos consumidores na análise sensorial dos <i>snacks</i> aromatizados com sabores salgados.....	128
4.4.2.2	Teste de aceitação dos <i>snacks</i> de pinhão sabores salgados.....	128
4.4.3	Análise sensorial dos <i>snacks</i> aromatizados com sabores doces .....	130
4.4.3.1	Perfil dos consumidores na análise sensorial dos <i>snacks</i> aromatizados com sabores doces.....	130
4.4.3.2	Teste de aceitação dos <i>snacks</i> de pinhão sabores doces.....	131
5.	CONCLUSÃO .....	133
6.	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	135
	REFERÊNCIAS.....	136
	APÊNDICE 1 – FICHAS DE AVALIAÇÃO.....	155
	APÊNDICE 2 – BALANÇO DE MASSA .....	156
	ANEXO 1 – TCLE.....	157

## 1. INTRODUÇÃO

Encontrada na região sul do Brasil e em alguns países da América do Sul, a *Araucaria angustifolia* sofreu intensa exploração madeireira durante muitos anos, enquadrando-se atualmente na lista das espécies com risco de extinção (CORDENUNSI et al., 2004; BRASIL, 2008a; FIGUEIREDO FILHO et al., 2011). A agregação de valor ao pinhão, que é a semente comestível da Araucária, é o principal incentivo à perpetuação ou à manutenção desta árvore nas florestas, haja vista que além de promover a Araucária pelo seu uso sustentável, tem se mostrado como atividade mais rentável do que a exploração da madeira (ZANETTE, 2010).

Dentre os produtos que podem ser obtidos a partir do pinhão, o amido merece especial atenção em função das possibilidades de uso deste ingrediente, tanto para a área farmacêutica e química, quanto para a própria indústria alimentícia.

O pinhão é um alimento rico em amido, baixo índice glicêmico, baixos teores de lipídios e açúcares e além de ser livre de glúten, alguns compostos presentes ainda têm caráter funcional como os antioxidantes e o amido resistente (CORDENUNSI et al., 2004; DAUDT et al., 2014).

Nesse contexto, um interessante processo industrial de aplicação do pinhão como matéria-prima, é a extrusão termoplástica. Essa tecnologia permite a obtenção de produtos alimentícios com boa aceitação sensorial, de fácil preparo ou prontos para o consumo, como os *snacks*, as farinhas pré-gelatinizadas e os cereais pré-cozidos, além de aumentar a digestibilidade com melhoria de sabor e textura (CAMIRE, 1998).

O princípio básico da extrusão é converter um material sólido em fluido pela aplicação de calor e trabalho mecânico forçando sua passagem através de uma matriz para formar um produto com características físicas e geométricas pré-determinadas. O processo combina várias operações unitárias como mistura, cocção, moagem e formatação em um único equipamento, podendo melhorar as características nutricionais dos produtos por meio da gelatinização do amido, da desnaturação e re-orientação das proteínas, da inativação enzimática, da destruição de algumas substâncias tóxicas e da diminuição da contagem microbiana (YACU, 1990).

A elaboração de produtos extrusados a partir do pinhão pode ser promissora, conforme foi verificado em ensaios preliminares desenvolvidos pela

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) Agroindústria de Alimentos, sendo reportadas várias características interessantes como alta expansibilidade e textura aerada. A tecnologia de extrusão tem sido ascendentemente utilizada para produzir uma variedade de produtos e pode incentivar o cultivo de um produto nativo da região do Estado do Paraná que é o pinhão.

## 1.1 JUSTIFICATIVA

A *Araucaria angustifolia* é uma planta gimnosperma de ocorrência natural nas regiões Sudeste e Sul do Brasil e considerada uma espécie em extinção.

Processos que agreguem renda a produtos não madeiráveis, como o pinhão, podem se tornar ferramentas para a preservação da espécie. Entretanto, o curto período de tempo de desenvolvimento destas sementes durante o ano (sazonalidade), a falta de estrutura para armazenamento em câmaras frias e a característica recalcitrante ao serem submetidas a quaisquer tecnologias de conservação para posterior consumo, como a secagem, por exemplo, que são feitas em grãos de milho, arroz, feijão, entre outros, inviabilizam seu consumo fora de época (AMARANTE et al., 2007).

O presente trabalho almejou incentivar a preservação e manutenção da *Araucaria angustifolia* a partir da utilização de suas sementes sob a forma de novos produtos: amido; ou após os processos de secagem, moagem e extrusão, *snacks* ou farinha de extrusados de pinhão.

Além do aspecto técnico-científico e inovador, este trabalho contempla aspectos sociais e ambientais.

## 1.2 OBJETIVO GERAL

O trabalho desenvolvido teve como objetivo estudar a estrutura do amido de pinhão e a influência dos parâmetros de processo ao extrusar farinha destas sementes (*Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze).

### 1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar a estrutura fina do amido de pinhões de diferentes acessos, colhidos em diferentes épocas, por meio da determinação do conteúdo de amilose aparente, da massa molar e raio de giro da amilopectina e da distribuição do comprimento das cadeias ramificadas da amilopectina;
- Determinar as propriedades térmicas, sinérese, poder de inchamento e solubilidade, claridade e propriedades de pasta e de digestibilidade *in vitro* dos amidos de pinhão colhidos em diferentes épocas;
- Estabelecer correlações entre as características estruturais e as propriedades funcionais do amido de pinhão;
- Avaliar o efeito da umidade, velocidade de rotação do parafuso e temperatura da terceira zona de extrusão sobre as variáveis dependentes de extrusão tais como índices de expansão, propriedades mecânicas, de coloração, de hidratação, viscoamilográficas e de digestibilidade *in vitro*;
- Investigar a aceitação de *snacks* de pinhão nas formas natural, aromatizada com sabores salgados e doces.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 ARAUCÁRIA

A *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze é uma conífera nativa do sul do Brasil, especialmente das terras altas dos Estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Esta conífera pertencente à família *Araucariaceae* (QUADRO 1), recebeu este nome por ter sido descrita por Bertoloni em 1820 como *Columbea angustifolia* Bert., posteriormente foi re-escrita por Richard em 1922 como *Araucaria brasiliana* Rich. e retificada por Otto Kuntze como *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze (SOARES; MOTTA, 2004).

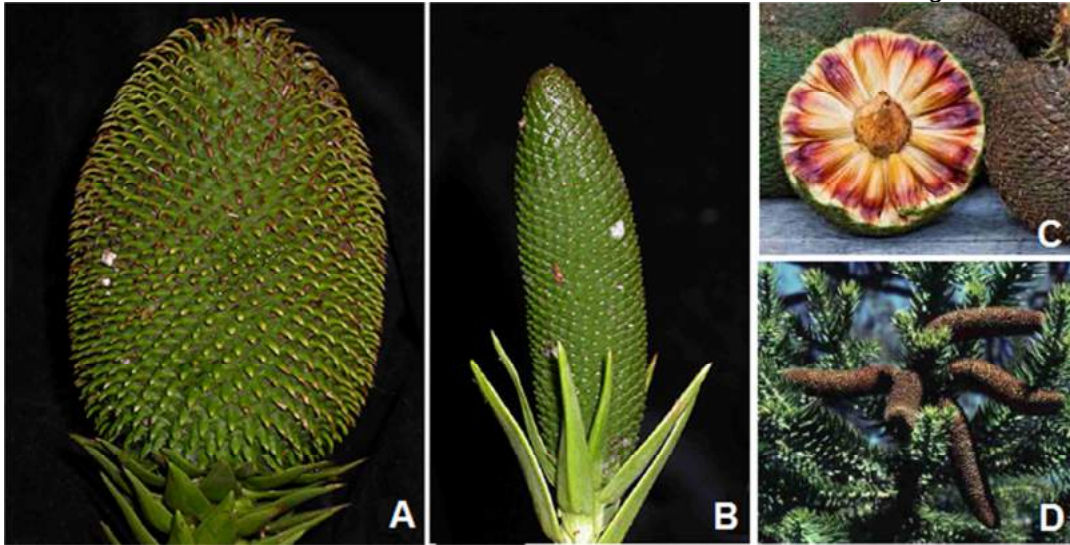
QUADRO 1 – TAXONOMIA DA *Araucaria angustifolia*

TAXONOMIA	
<b>REINO</b>	Vegetal
<b>ORDEM</b>	<i>Coniferae</i>
<b>CLASSE</b>	<i>Coniferopsida</i>
<b>FAMÍLIA</b>	<i>Araucariaceae</i>
<b>DIVISÃO</b>	<i>Gymnospermae</i>
<b>ESPÉCIE</b>	<i>Araucaria angustifolia</i> (Bertoloni) Otto Kuntze
<b>NOME COMUM</b>	Pinheiro-do-Paraná, Pinheiro-Brasileiro, <i>Brazilian Pine</i>
<b>ESPÉCIES</b>	<i>Araucaria angustifolia</i> , <i>Araucaria araucana</i>

FONTE: IPEF (2003).

Esta espécie é tratada, de forma natural, como uma planta dióica (há árvores femininas e masculinas) ocorrendo predominância de pinheiros masculinos (BANDEL; GURGEL, 1967). Segundo Mantovani et al. (2004), quando as árvores atingem a idade reprodutiva, após a polinização realizada naturalmente pelo vento, ocorrente nos meses de agosto a dezembro, os estróbilos masculinos dão origem aos pendões (ou mingotes) que caem ao solo após liberarem o pólen, e os femininos desenvolvem-se formando as pinhas (FIGURA 1). Os ciclos reprodutivos acontecem com anos de contra safra após dois ou três anos consecutivos de alta produção de sementes, e estes podem ser longos, sendo que a primeira flora pode ocorrer antes dos 20 anos de idade nas populações naturais e antes dos 15 anos quando cultivadas isoladamente (CARVALHO, 2003).



FIGURA 1 - ESTRÓBILOS MASCULINOS E FEMININOS DA *Araucaria angustifolia*

FONTE: FAGRO (2016) com adaptações.

LEGENDA: A) pinha jovem; B) pendão jovem; C) pinha madura; D) pendão maduro

As araucárias chegam a viver em média, entre 200 e 300 anos, cuja idade é calculada a partir dos anéis de crescimento formados no tronco, alcançando altura de 50 metros. Estas árvores são caracterizadas como de tronco cilíndrico e reto, cujas copas sofrem alterações ao longo de suas vidas, da forma piramidal na fase jovem, passando a ter copa umbeliforme na fase adulta, e na medida em que vai se tornando senil, a copa adquire a forma de cálice (FIGURA 2) (APREMAVI, 2013).

FIGURA 2 - A ARAUCÁRIA

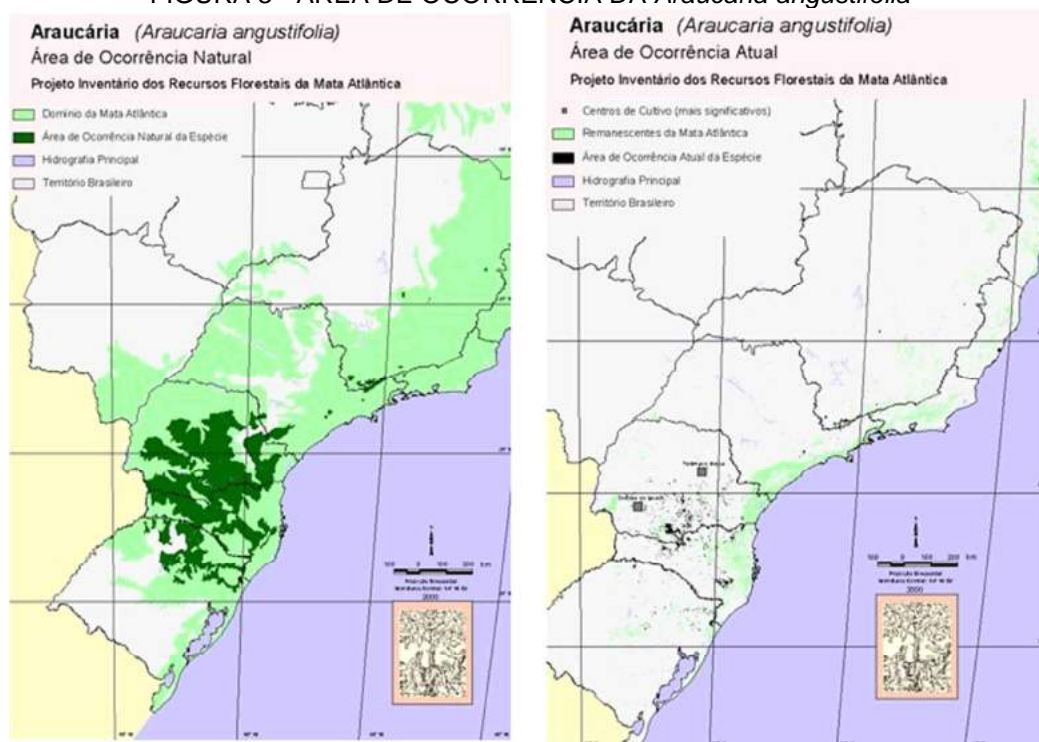


A área de ocorrência natural da araucária no Brasil, há mais de 100 anos, era de aproximadamente 200.000 km<sup>2</sup> (SOLÓRZANO-FILHO; KRAUS, 1999), estando presente 40% no território do Paraná, 30% em Santa Catarina e 25% no Rio Grande do Sul. Também ocorria nas partes mais elevadas (serras) dos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais (APREMAVI, 2013).

Devido à alta qualidade da madeira para construções e do alto teor de celulose para fabricação de papel, leve e sem falhas, esta espécie foi intensamente explorada a partir do século XX, sendo por várias décadas um dos produtos mais importantes da exportação brasileira (KOCH; CORRÊA, 2010; APREMAVI, 2013).

A ação humana levou à fragmentação e redução brusca da área ocupada pelas matas de araucária que nos últimos tempos concentra-se na região mostrada na FIGURA 3. No estado do Paraná, existem apenas 0,8% de remanescentes em estágio avançado de regeneração, ou seja, que guardam as condições e características originais (APREMAVI, 2013; CN-RBMA, 2014).

FIGURA 3 - ÁREA DE OCORRÊNCIA DA *Araucaria angustifolia*



FONTE: CN-RBMA - Projeto Inventário dos Recursos Florestais da Mata Atlântica (2014).

Desde o início do século XXI a Legislação Brasileira impede a exploração da madeira de araucárias nativas (CONAMA, 2001), uma vez que ela é reconhecida como uma das espécies da flora brasileira ameaçada de extinção (FARJON, 2008; BRASIL, 2008a).

Desse modo, o pequeno produtor rural buscou como alternativa para obtenção de renda extra, a comercialização de produtos não madeiráveis de várias espécies florestais ameaçadas de extinção, como é o exemplo da exploração do pinhão, produzido pela araucária (FIGUEIREDO FILHO et al., 2011). Conforme Hess

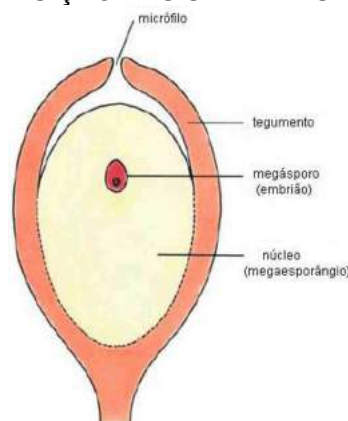
et al. (2010), Zanette (2010) e Danner, Zanette e Ribeiro (2012), o cultivo da araucária estimulado pelo interesse econômico no pinhão é uma ferramenta eficaz para aumentar os plantios e diminuir a exploração das árvores remanescentes.

## 2.2 PINHÃO

A *Araucaria angustifolia* é uma gimnosperma (*gymnos* = nú; *sperma* = semente), ou seja, uma planta que produz flor e semente, e pelo fato destas sementes não estarem envolvidas por um ovário desenvolvido (fruto), são sementes nuas, reunidas no estróbilo feminino ou pinha. Uma árvore feminina produz anualmente em média de 80 pinhas, com cada pinha pesando entre 0,6 kg e 4,0 kg, com 10 a 25 cm de diâmetro, e quando “desfalham” quando maduras, é possível encontrar cerca de 700-1200 escamas e sementes de massa média de aproximadamente 9 g a unidade. Em cada pinha é possível encontrar de 60 a 150 sementes; e em 1 kg de semente, aproximadamente de 125 a 200 unidades (KRÜGEL, 1992; CARVALHO, 1994; MATTOS, 1994; FIGUEIREDO FILHO et al., 2011).

As sementes, conhecidas como pinhões, desenvolvem-se a partir de óvulos nus, sem a presença de ovários e possuem geralmente tegumento duro, endosperma abundante e um embrião (SOARES; MOTTA, 2004). Segundo Borda e Stehmann (2007), o óvulo é envolvido por uma folha modificada (bráctea), constituída pelo tegumento (casca) com um micrópilo (pequena abertura), pelo megasporângio (núcleo que serve de alimento nos primeiros estádios da germinação) e pelo megásporo (embrião) (FIGURA 4).

FIGURA 4 - CONSTITUIÇÃO DAS SEMENTES DE GIMNOSPERMAS

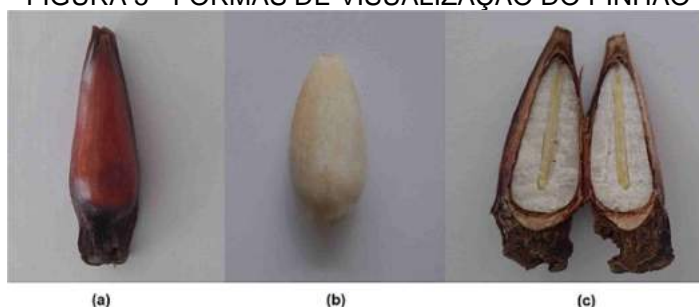


FONTE: BORDA; STEHMANN (2007).

A casca do pinhão possui cor marrom avermelhada e a amêndoa, a parte comestível, é muito dura quando crua; de maneira a necessitar de um processo de abrandamento de sua textura para permitir o consumo (CONAB, 2014).

De acordo com Soares e Motta (2004), os pinhões possuem forma abovada-ablonga, com ápice terminando com um espinho achatado, e curvo para a base. A amêndoa branca ou rósea-clara é constituída em maior proporção por amido; no centro encontra-se o embrião, que é reto e constitui 5/6 do comprimento da amêndoa (FIGURA 5).

FIGURA 5 - FORMAS DE VISUALIZAÇÃO DO PINHÃO



LEGENDA: a) Pinhão com casca; b) Amêndoa; c) Pinhão com casca cortado longitudinalmente

O pinhão apresenta uma composição química variável. Na TABELA 1 estão listados os valores da composição centesimal do pinhão *in natura* descritos por vários autores.

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA SEMENTE *IN NATURA* DE *Araucaria angustifolia*

Composição centesimal (%)	WOSIACKI; CEREDA (1985)	CORDENUNSI et al. (2004)	CLADERA-OLIVERA et al. (2008)	CAPELLA; PENTEADO; BALBI (2009)
Umidade	38,10	49,50	46,70	51,16
Cinzas	nd	3,17	nd	2,85
Proteínas	8,08	7,07	5,57	6,59
Lipídios	2,91	2,50	2,33	7,38
Fibra alimentar	nd	9,90	nd	15,34
Carboidratos	nd	75,80	66,60	67,84

FONTE: WOSIACKI; CEREDA (1985); CORDENUNSI et al. (2004); CLADERA-OLIVERA et al. (2008); CAPELLA; PENTEADO; BALBI (2009).

NOTA: valores em base seca (b.s.)

nd = valor não determinado

De acordo com Bello-Pérez et al. (2006) e Bicudo et al. (2009), o amido é o constituinte principal destas sementes. Segundo Cordenunsi et al. (2004), inserido nos carboidratos, cerca de 35% da semente é amido.

Spada et al. (2010) citam que existem poucos trabalhos que tentam dar ao pinhão outras utilizações visando o aumento de seu consumo, sendo uma perspectiva promissora a utilização tanto do seu amido quanto de sua farinha como ingredientes para a indústria de alimentos, além de se tratar de um alimento sem glúten.

### 2.2.1 Produção de pinhão

De acordo com Danner, Zanette e Ribeiro (2012), a importância econômica do pinhão para os estados de ocorrência natural da araucária é significativa. O Paraná é o maior Estado produtor de pinhão, o qual teve um crescimento médio de 12% em 10 anos, passando a produzir de 2 mil toneladas em 2001 para aproximadamente 6 mil toneladas em 2012 (QUADRO 2) (SEAB/DERAL, 2014).

QUADRO 2 - PRODUÇÃO E VBP DE PINHÃO NO ESTADO DO PARANÁ

ANO	PRODUÇÃO (t)	VBP* (R\$)
1998	1.587	1.412.839
1999	1.821	1.839.705
2000	1.667	1.333.812
2001	2.015	1.551.517
2002	1.997	1.856.715
2003	2.207	2.847.036
2004	3.542	3.860.161
2005	2.647	2.196.881
2006	2.162	2.140.120
2007	2.663	2.715.862
2008	3.277	4.227.121
2009	3.989	5.424.496
2010	4.419	4.904.757
2011	5.335	-
2012	6.065	7.300.000

FONTE: SEAB/DERAL (2014).

NOTA: \*Valor Bruto da Produção/nominal

Há poucos estudos de impacto socioeconômico do pinhão e boa parte de sua comercialização ainda é clandestina (sem emissão de notas fiscais), o que dificulta a mensuração da magnitude de mercado (SANTOS et al., 2002; SILVA; REIS, 2009). Por isso, seria necessário organizar a cadeia de comercialização dos extratores e comerciantes em associações ou cooperativas, criando também um sistema de certificação do pinhão (FLORIANI, 2007).

Segundo Santos et al. (2002), o fluxo de comercialização do pinhão caracteriza-se essencialmente pelo baixíssimo grau de industrialização, decorrente

basicamente de aspectos culturais, restrições ditadas pela sazonalidade e quantidade produzida do produto. Para mudar esta realidade seria necessário implantar uma estrutura de armazenamento em câmaras frias (AMARANTE et al., 2007), desenvolver técnicas de industrialização do pinhão, além de intensificar a divulgação do mesmo como um alimento nutritivo. Isto favoreceria a comercialização também fora da época de colheita e o acesso a mercados consumidores fora da área de ocorrência da Floresta com Araucária, obtendo-se maior valor agregado e aumentando a renda das famílias envolvidas (ZANETTE, 2010).

### 2.3 AMIDO

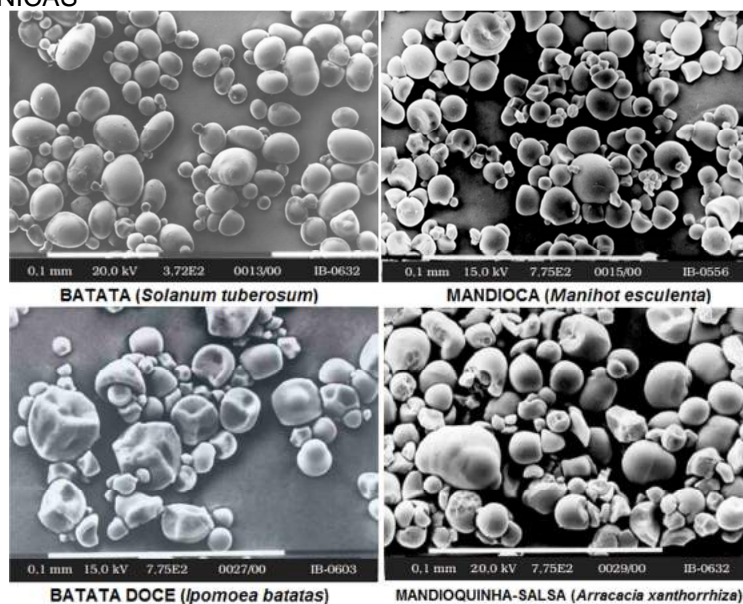
O amido é o principal carboidrato de reserva das plantas superiores, sendo encontrado sob a forma de grânulos. Sua estrutura é composta por dois tipos de macromoléculas: amilose e amilopectina, formadas um homopolissacarídeo neutro ( $\alpha$ -D-glicose) (BEMILLER; WHISTLER, 1996; FRANCO et al., 2001).

A presença de amido é abundante em grãos de cereais (40% a 90% da massa seca), leguminosas (30% a 50% da massa seca), tubérculos (65% a 85% da massa seca) e frutas imaturas ou verdes (40% a 70% da massa seca) (FRANCO et al., 2001; LAJOLO; MENEZES, 2006).

Os grânulos de amido variam conforme suas formas e tamanhos (esferas, elipsóides, polígono, plaquetas e irregulares túbulos), dependendo da sua origem botânica (FIGURA 6), visto que a morfologia, composição química e estrutura molecular, é característica de cada espécie (GALLANT et al., 1992; TESTER; KARKALAS; QI, 2004).



FIGURA 6 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DE AMIDO DE DIFERENTES FONTES BOTÂNICAS



FONTE: Adaptado de LEONEL (2007).

Pela Legislação Brasileira (BRASIL, 1978), esses polissacarídeos de reserva dos vegetais são designados amido ou fécula, se provenientes de partes aéreas ou subterrâneas das plantas, respectivamente. As cinco principais espécies consideradas fonte de amido comercial são o milho, mandioca, trigo, batata e arroz (WATERSCHOOT et al., 2015).

Em 2012, cerca de 75 milhões de toneladas de amido foram produzidos no mundo, sendo 54% desse total destinado ao uso alimentício e os EUA, os responsáveis por 50% da produção, seguido pela China com 20%. O Brasil detém 3,5% da produção mundial de amido (GIANINNI, 2011; WATERSCHOOT et al., 2015).

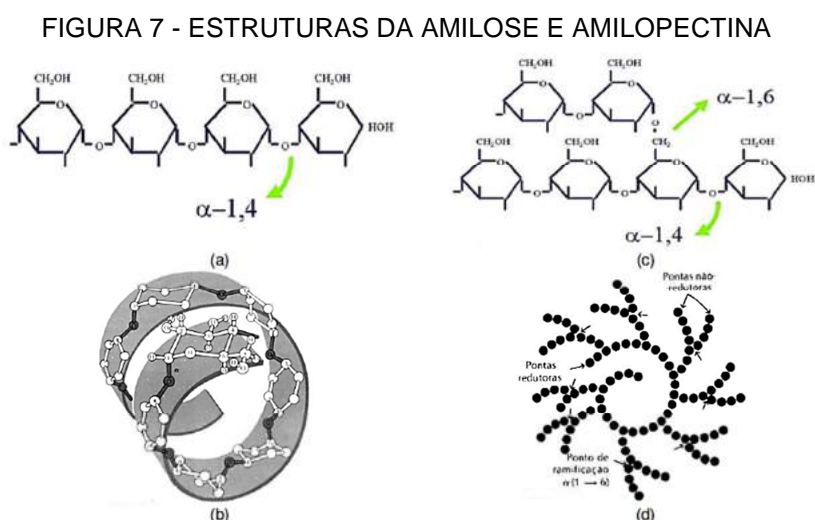
Na indústria alimentícia, a viscosidade e o poder geleificante do amido, influenciadas pela proporção amilose/amilopectina, teor de proteína e lipídio além da estrutura, forma e tamanho dos grânulos, são fatores fundamentais para sua utilização no controle de propriedades mecânicas, de textura, adesão, tendência a retrogradação, entre outras (SMITH, 2001; DAIUTO; CEREDA; CARVALHO, 2002).

As empresas produtoras de amido, no mundo, vêm mostrando um interesse cada vez maior em amidos naturais com características específicas para conferir atributos funcionalmente desejáveis que atendam ao mercado consumidor (BELLO-PÉREZ et al., 2006; BICUDO et al., 2009). Frente a este fato as pesquisas em torno de novas matérias-primas amiláceas têm se intensificado nos últimos anos.

O conhecimento sobre as características estruturais e funcionais dos amidos é de grande importância para sua aplicação com fim específico. Segundo Bello-Pérez et al. (2006), o pinhão é uma boa fonte de amido e pode apresentar tendência para seu uso comercial.

### 2.3.1 Amilose e amilopectina

Estruturalmente, a amilose e amilopectina são consideradas homopolímeros (FIGURA 7), sendo constituídas apenas por unidades de glicose, que diferem no tipo de ligação;  $\alpha$ -1,4 e  $\alpha$ -1,6. A maioria dos amidos contém uma proporção de 20% a 30% de amilose e 70% a 80% de amilopectina, mas é variável conforme a origem botânica (JANE et al., 1999).



FONTE: BIOINFO (2016).

LEGENDA: (a) estrutura linear da amilose; (b) estrutura espacial da amilose; (c) estrutura linear da amilopectina; (d) estrutura espacial da amilopectina.

A proporção entre amilose e amilopectina, assim como a organização física das mesmas dentro da estrutura granular, varia conforme a fonte botânica, o que irá conferir características específicas à pasta de amido como sua funcionalidade e por conseguinte, suas possíveis aplicações (BILIADERIS, 1991).

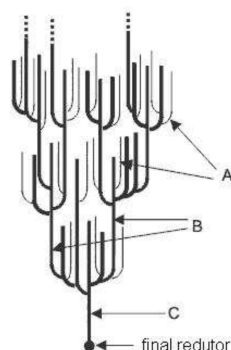
A amilose é um polissacarídeo composto de até aproximadamente 3000 moléculas de glicose interligadas por ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4, unidas em longas cadeias predominantemente lineares (TAKEDA; TOMOOKA; HIZUKURI, 1993; FRANCO et al., 2001). Insolúvel em água a amilose tende a compor micelas



hidratadas devido à sua capacidade de formar ligações de hidrogênio com moléculas próximas e gerar uma estrutura helicoidal (FIGURA 7b). Esta característica estrutural permite a formação de uma coloração azul com o iodo podendo inclusive ser estimado o teor de amilose por métodos potenciométricos ou espectrofotométricos (SCHOCH, 1964).

A amilopectina é um polímero grande formado por ligações  $\alpha$ -1,4 nas porções retilíneas e ligações  $\alpha$ -1,6 que correspondem a pontos de ramificação (FRANCO et al., 2001). A FIGURA 8 mostra uma molécula de amilopectina que consiste de uma cadeia principal (representada pela letra C), que carrega o único grupo redutor, e numerosas cadeias ramificadas denominadas cadeias A e B. As cadeias A são aquelas que são conectadas a outras cadeias via ligações  $\alpha$ -1,6, mas não carregam qualquer ramificação. Cadeias B (mais ramificadas) são aquelas conectadas a outras cadeias via ligações  $\alpha$ -1,6 que possuem uma ou mais cadeias A ou B (CHAPLIN, 2013).

FIGURA 8 - DIAGRAMA DA ESTRUTURA MOLECULAR DA AMILOPECTINA EM FORMA DE CACHOS (CLUSTERS)



FONTE: CHAPLIN (2013).

Segundo Bertoft (2004), as moléculas de amilopectina são orientadas radialmente dentro do grânulo de amido e, à medida que o raio do grânulo de amido aumenta, aumenta o número de ramificações necessárias para preencher os espaços vazios, com a consequente formação de regiões concêntricas alternadas em amorfas e cristalinas. Dessa forma, resultantes da variação do conteúdo de água e do empacotamento em dupla hélice das cadeias ramificadas, os grânulos podem ser caracterizados por difração de raios X em padrões A, B ou C (BULEÓN et al., 1998; JANE, 2006).

O padrão A, característico de amidos de cereais, possui uma estrutura relativamente compacta com um baixo conteúdo de água o que resulta em uma

conformação altamente cristalina. Além disso, amidos desse tipo, apresentam cadeias curtas de amilopectina e baixos teores de fósforo. O padrão B, presente em amidos de raízes, frutas, tubérculos e outros amidos ricos em amilose, apresenta estrutura mais aberta e são compostos por longas cadeias de amilopectina e altos níveis de fósforo. E por fim, o padrão C, encontrado em amidos de certas raízes, sementes (maioria das leguminosas) e alguns cereais, apresentam uma estrutura intermediária entre os modelos A e B, e é ainda subclassificado em C<sub>A</sub>, C<sub>B</sub> e C<sub>C</sub>, de acordo com a semelhança com os padrões A e B ou entre os dois tipos, respectivamente (ELIASSON, 1996; BULEÓN et al., 1998; HOOVER, 2001; ELIASSON, 2004).

Estudos da estrutura fina do amido (amilose e amilopectina) vêm sendo realizados a partir de técnicas como cromatografia de permeação em gel (GPC), cromatografia de exclusão por tamanho de alta performance (*HPSEC - high performance size exclusion chromatography*) acoplada a espalhamento de luz laser com multiângulos (*Multi-angle laser light scattering - MALLS*) e um detector de índice de refração (*Refractive index - RI*) e cromatografia de troca iônica de alta performance equipada com um detector de pulso amperométrico (HPAEC-PAD) (ROCHA et al., 2011).

A determinação da massa molar do polímero utilizando a técnica de *HPSEC* é dada após a amostra em solução ser carregada pelo solvente até uma ou mais colunas dispostas em série, preenchidas com material poroso. A separação ideal por tamanho ocorre pela permeabilidade diferencial dos poros. As moléculas menores são detidas por mais tempo dentro da coluna, enquanto as moléculas maiores deslocam-se mais rapidamente (KOSTANSKI; KELLER; HAMIELEC, 2004). Como as colunas de permeação em gel separam o polímero de acordo com o tamanho, as frações são submetidas ao laser e os detectores multiângulos medirão instantaneamente as intensidades dos espalhamentos, a partir dos quais a massa molar (*molecular weight - M<sub>w</sub>*) e o raio de giro (*gyration radius - R<sub>z</sub>*) serão então, determinados.

A estimativa da distribuição do comprimento de cadeias ramificadas da amilopectina tem ajudado a descrever mecanismos de cristalização, biossíntese e organização desta macromolécula dentro do grânulo de amido, sendo a estrutura molar deste polímero muito importante para explicação de suas propriedades funcionais.

### 2.3.2 Propriedades do amido

A compreensão da estrutura dos grânulos de amido é importante no entendimento de suas propriedades particulares, tais como solubilidade, poder de inchamento, absorção de água, viscosidade e gelatinização, as quais determinam o seu comportamento nos mais diversos processos e aplicações industriais.

#### 2.3.2.1 Propriedades térmicas do amido

A análise térmica é o termo aplicado a um grupo de técnicas, nas quais a propriedade física de uma substância é medida em função do tempo ou da temperatura, enquanto é submetida a uma programação controlada (IONASHIRO, 2005). Conforme Caponero e Tenório (2013), as propriedades físicas dos materiais incluem massa, temperatura, entalpia, dimensão, características dinâmicas e outras, determinadas a partir de diferentes técnicas (TABELA 2).

TABELA 2 - CLASSIFICAÇÃO DAS PRINCIPAIS TÉCNICAS DE ANÁLISES TÉRMICAS SEGUNDO O PARÂMETRO MEDIDO

Parâmetro medido	Definição da técnica
Massa	Termogravimetria (TG)
Temperatura ( $T_0-T_f$ )	Análise térmica diferencial (DTA)
Entalpia ( $dH/dt$ )	Calorimetria exploratória diferencial (DSC)
Deformação (volume ou comprimento)	Análise termo-mecânica (dilatometria) (DIL)
Elasticidade	Análise dinâmico-mecânica (DMA)
Condutividade térmica	Deteção de gases envolvidos (EGD)
Espectrometria ou cromatografia	Análise de gases envolvidos (EGA)

FONTE: CAPONERO; TENÓRIO (2013).

O processo de gelatinização é um processo endotérmico, dessa forma, muitos métodos de análises térmicas têm sido utilizados para estudar os fenômenos envolvidos nesse processo tais como a calorimetria exploratória diferencial (DSC).

A DSC é uma técnica derivada da análise térmica diferencial (DTA), por isso, muito semelhante e complementar à mesma, entretanto, na técnica da DSC, tanto a amostra quanto a referência são mantidas à mesma temperatura ao longo do ciclo térmico programado, ou seja, esta técnica consiste em medir a diferença de energia fornecida à substância e a um material de referência, termicamente inerte, em função da temperatura a uma programação controlada (OLIVEIRA, 2011; CAPONERO; TENÓRIO, 2013).

### 2.3.2.2 Propriedades viscoamilográficas do amido

A viscosidade de pasta do amido, avaliada em viscoamilógrafo, parece ser determinada por dois fatores: o grau de inchamento dos grânulos e a resistência desses grânulos à dissolução pelo calor ou à fragmentação pela agitação mecânica (FRANCO et al., 2001). Segundo Teba, Ascheri e Carvalho (2009), os parâmetros de viscosidade de pasta possibilitam a determinação e o estudo do grau de cozimento do produto extrusado, bem como permitem avaliar o comportamento do amido em meio aquoso, aplicando-se diferentes temperaturas durante o processo. Assim, as propriedades de pasta constituem propriedades funcionais de grande importância na elaboração de diversos produtos, incluindo os *snacks*.

Os grânulos de amido, quando suspensos em água e submetidos a um aquecimento, fazem com que as moléculas vibrem com força e com isso, rompam as ligações intermoleculares e estabeleçam ligações de hidrogênio com a água, ou seja, o processo de gelatinização ocorre, o qual estruturalmente se resume ao colapso e desintegração da ordem molecular dos grânulos e conduz a modificações irreversíveis nas suas propriedades, tais como: absorção de calor, inchamento do grânulo, dissociação da estrutura de duplas hélices nas regiões cristalinas e lixiviação da amilose, solubilização do amido, perda de birrefringência e aumento da viscosidade (CEREDA, 2001; PEREDA et al., 2005; SINGH; KAUR; McCARTHY, 2007; BICUDO et al., 2009). Quando essa suspensão gelatinizada de amido é resfriada à temperatura ambiente, condições que induzem à recristalização das cadeias constituintes do amido suspenso são criadas e o que ocorre é a retrogradação (fenômeno bem mais lento que o anterior) (PARKER; RING, 2001). Além disso, na retrogradação as cadeias do polímero que se encontram agregadas no gel, se alinham para formar os cristais. Essa cristalização endurece o gel e acarreta o fenômeno de sinérese, que corresponde à expulsão de parte do solvente (água) para fora do gel.

As propriedades reológicas da matéria-prima têm importante influência na textura e coloração do produto extrusado. Os fatores mais importantes são: tipo, teor de umidade, estado físico e composição química, particularmente a quantidade e tipo de amido, proteínas, gorduras e açúcares. O pH do material umidificado também interfere (FELLOWS, 2006). A viscosidade é um fator crucial, que determina as

condições de operação da extrusora, e portanto, a qualidade do produto final. Segundo Zhang e Hosney (1998) e Ryu e Ng (2001), as expansões, longitudinal e radial, são dependentes da viscosidade e da elasticidade do material fundido, respectivamente.

### 2.3.3 Digestibilidade *in vitro*

De acordo com Englyst, Kingman e Cummings (1992), e Ramos, Leonel e Leonel (2009), o amido é classificado conforme a velocidade com a qual é digerido *in vitro*: amido rapidamente digerido (ARD) amido lentamente digerido (ALD) ou amido resistente (AR), em função da sua estrutura físico-química, da sua susceptibilidade à hidrólise enzimática, e de acordo com a taxa de liberação de glicose e sua absorção no trato gastrointestinal.

O ARD (na sigla em inglês *RDS, rapidly digestible starch*) corresponde ao amido totalmente digerido no intestino delgado, ou, ao ser submetido à incubação com amilase pancreática e amiloglucosidase a uma temperatura de 37 °C, converte-se em glicose em 20 minutos; o ALD (ou *SDS, slowly digestible starch*), é o amido que, nas condições anteriores, é convertido em glicose em 120 minutos, e no organismo ainda que digerido totalmente no intestino delgado, conduz a uma lenta liberação de glicose na corrente sanguínea e uma baixa resposta glicêmica; e o AR (ou *RS, resistant starch*) caracteriza-se por ser resistente à ação das enzimas digestivas, e no organismo é fermentado no intestino grosso pela microbiota nativa.

O *European Flair Concertet Action on Resistant Starch* (Euresta) definiu o amido resistente como a soma do amido e produtos da degradação do amido que não são digeridos pelas enzimas humanas de indivíduos saudáveis (ANNISON; TOPPING, 1994).

Conforme Bednar et al. (2001), existem quatro classificações de amido resistente dependentes da estrutura física e da susceptibilidade ao ataque enzimático: o AR 1, grânulos fisicamente inacessíveis encapsulados na matriz do alimento, encontrados em sementes e leguminosas parcialmente triturados; o AR 2, nativo, presente especialmente na banana verde, batata crua e alimentos processados com gelatinização incompleta; o AR 3, formado após a retrogradação do amido; o AR 4, que é o amido modificado quimicamente, que incorporado à formulação dos alimentos não altera suas características sensoriais.

Fisiologicamente o amido resistente pode ser definido como a soma do amido e produtos de sua degradação não digeridos/absorvidos no intestino delgado de indivíduos saudáveis, podendo, entretanto, ser fermentado no intestino grosso, produzindo gases e ácidos graxos de cadeia curta. Esses efeitos em alguns casos são comparáveis aos da fibra alimentar e, por este motivo, normalmente é considerado como um componente desta (CHAMP, 1992; CHAMP; FAISANT, 1996; CIACCO *et al.*, 2001 apud RAMOS; LEONEL; LEONEL, 2009).

## 2.4 EXTRUSÃO

Segundo Fellows (2006), as mudanças econômicas, a evolução da industrialização, a disponibilidade de alimentos e as maneiras de se trabalhar vêm transformando os estilos tradicionais de vida, incluindo-se aqui os hábitos alimentares. Desse modo, em virtude da variedade de opções e pressionados pela falta de tempo, os consumidores estão deixando aos produtores de alimentos, a tarefa de encontrar soluções simples, para se alimentar de modo mais fácil, rápido e prazeroso. Nesta linha, os alimentos do tipo *snacks*, têm se tornado comum no hábito alimentar da maior parte da população mundial e a tecnologia do cozimento por extrusão, um dos principais processos para desenvolver produtos alimentícios.

Segundo Berk (2009), a palavra "extrusão" provém da palavra latina *extrudere* que significa "ação de empurrar para fora". De acordo com Baruffaldi e Oliveira (1998) e Gutkoski (2000), uma extrusora é constituída basicamente por:

*Alimentador*: composto de um recipiente para receber o material a ser extrusado e de um parafuso ou vibrador, localizado na vertical ou horizontal. Tem a função de manter a alimentação constante e ininterrupta, o que é essencial para o funcionamento da extrusora, bem como para a homogeneidade e a qualidade do produto;

*Rosca ou parafuso de Arquimedes*: tem por função misturar continuamente o material e conduzi-lo pelo cilindro, gerando fricção mecânica e calor, que ajudam a fundir o produto, a regular o grau de cozimento, a gelatinização e a qualidade final dos extrusados;

*Cilindro estacionário encamisado*: envolve o parafuso e é dividido em seções para permitir a circulação de vapor, óleo, água ou ar que colaboram para o ajuste perfeito de temperatura entre as várias zonas da extrusora;

*Matriz:* apresenta configurações variadas e assim, termina por dar forma ao material quando este é forçado a passar através desses moldes, ou seja, funciona como um restritor de fluxo, mantendo a pressão na zona de cocção.

*Mecanismo de corte:* acoplado à porção final do equipamento, este é constituído por lâminas horizontais ou verticais que, de acordo com a velocidade de giro, determinam o comprimento do produto. Uma maior velocidade vai originar produtos mais curtos e vice-versa. O mecanismo promove o corte do produto em comprimento uniforme e com superfícies perfeitas.

A transformação do material durante o processo de cozimento por extrusão ocorre em três etapas: a plastificação, como processo físico principal, onde o material sólido torna-se um líquido homogêneo pela fusão (cozimento); o modelamento do material em estado fundido pela passagem através da matriz; e por fim, a texturização do produto (COLONNA; BULEON; MERCIER, 1987).

De acordo com Borba, Sarmento e Leonel (2005), a principal propriedade dos produtos extrusados é a expansão. A alta pressão existente próxima à descarga da matriz, que consiste de orifícios de diversos formatos, é reduzida quando o produto sai da extrusora, ocasionando a evaporação instantânea da água e a expansão do produto. A rápida evaporação da umidade do produto resulta em um resfriamento adiabático, ocorrendo sua solidificação ou endurecimento. O produto extrusado final passa a ter uma textura que é de grande importância para sua qualidade.

A presença de amido em uma matéria-prima é o que dá a expressiva possibilidade da mesma ser extrusada. O que se deseja em *snacks* com boas características é que os valores de fraturabilidade e dureza sejam baixos. Durante a extrusão-cocção, a estrutura cristalina organizada dos grânulos de amido é destruída de modo parcial ou total, dependendo da proporção amilose-amilopectina e das variáveis de extrusão.

O cozimento por extrusão apresenta as vantagens de: ser um processo contínuo com geração de pouco ou nenhum resíduo; possuir alta capacidade de produção por unidade de área; requerer pouca mão-de-obra; destruir substâncias tóxicas; diminuir a contagem microbiana; inativar enzimas; gelatinizar o amido; desnaturar e re-orientar proteínas; apresentar alta versatilidade (STANLEY, 1986).

Diante de todas essas vantagens, segundo Leonel et al. (2008), o processo também apresenta certa complexidade devido ao grande número de variáveis de

controle: a composição e umidade do material; o tamanho de suas partículas; a velocidade do parafuso de alimentação; a configuração do parafuso e da matriz; a temperatura; a pressão; a velocidade do parafuso central; e o tempo de residência, que conforme Yacu (1990), influenciam diretamente nos atributos de qualidade dos produtos tais como as propriedades físicas, químicas e funcionais dos extrusados que são: densidade, volume específico, umidade, expansão, os atributos sensoriais como aparência, sabor, textura, o grau de cozimento, avaliado através da susceptibilidade enzimática, viscosidade, índices de absorção e de solubilidade em água.

Segundo Colonna, Buleon e Mercier (1987), durante a extrusão, o amido que inicialmente se encontrava na forma granular quando na presença de umidade, é progressivamente comprimido pelo funcionamento da rosca e transformado em um material denso, compacto e a estrutura granular cristalina desaparece. As condições de extrusão podem ocasionar gelatinização ou hidrólise da molécula de amido, que geralmente modifica-se na capacidade de hidratação e solubilidade em água (FILLI; NKAMA, 2007; ALTAN, McARTHUR; MASKAN, 2009). O amido extrusado absorve líquido rapidamente, formando uma pasta à temperatura ambiente, sem qualquer aquecimento (BORBA; SARMENTO; LEONEL, 2005). Dessa forma, tem-se que tratamentos mecânicos e térmicos intensivos aumentam a acessibilidade e digestibilidade do amido (GIBSON; WILLIAMS, 2000).

Conforme estudos da Embrapa com *snacks*, desenvolvidos por Carvalho e Ascheri (2004), para se ter maior crocância é imprescindível que os extrusados expandidos passem por um processo de secagem após obtenção na saída da matriz. Além disso, a secagem do *snacks* é realizada com o objetivo de reduzir a umidade do produto de aproximadamente 13% até aproximadamente 5%. Com esse processo, obtém-se uma diminuição da atividade de água e a atividade microbiana é praticamente nula, o que acarreta um aumento na vida de prateleira do produto, devido a uma redução na velocidade das reações de degradação.

## 2.5 ANÁLISE SENSORIAL

Tendo em vista o desenvolvimento de um produto alimentício novo no mercado, de nada vale para o consumidor se este possuir excelentes características químicas, físicas ou microbiológicas, se as características sensoriais não



preencherem suas necessidades e anseios (DELLA LUCIA; MININ; CARNEIRO, 2006). Sendo assim, a análise sensorial tem por finalidade definir propriedades efetivamente subjetivas e indispensáveis à aceitação e preferência do consumidor (QUEIROZ; TREPTOW, 2006). Para isto faz-se o uso de testes afetivos os quais são aplicados às pessoas sem treinamento já que se espera que as respostas resultem da reação espontânea do indivíduo ao degustar ou avaliar um alimento (DE PENNA, 1999).

A Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), por meio da NBR 12.994 (ABNT, 1993b) classifica os métodos da análise sensorial em discriminativo, descritivo e sensitivo, sendo este último, o método que expressa a opinião pessoal do consumidor, obtendo a preferência ou a aceitação do consumidor em relação a novas ideias, características específicas ou globais de determinado produto (DELLA LUCIA; MININ; CARNEIRO, 2006).

De forma geral, os resultados dos testes de aceitação são analisados por técnicas estatísticas univariadas, nas quais as médias obtidas indicam que todos os consumidores possuem o mesmo comportamento, não levando em conta suas individualidades (REIS et al., 2006).

Em contrapartida, de forma cada vez mais comum, as técnicas multivariadas como de análise de agrupamento e de componentes principais (ACP) vêm sendo utilizadas. O Mapa Interno de Preferência (MIP), da ACP, considera a resposta individual de cada consumidor associado aos resultados instrumentais característicos de cada produto, uma vez que os critérios avaliados são identificados como dimensões que ocupam posições ortogonais em uma representação gráfica, permitindo que as amostras sejam representadas como pontos e os consumidores com critério principal de preferência, como valores (GREENHOF; MACFIE, 1994; CARDELLO; FARIA, 2000).

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAIS

Todas as sementes de *Araucaria angustifolia* (pinhões – FIGURA 9) utilizadas neste trabalho foram fornecidas pelo Banco Ativo de Germoplasma de Araucária da Embrapa Florestas.

FIGURA 9 - SEMENTES DE *Araucaria angustifolia*



Para as análises dos amidos de pinhão, sementes da mesma espécie provenientes de seis regiões de origem (cidades de Minas Gerais e Paraná) foram replantadas na cidade de Colombo/PR onde já existia uma espécie nativa. Estas sementes geraram árvores pertencentes ao Banco de Germoplasma da Embrapa Florestas localizada em Colombo/PR, sobre as coordenadas de latitude 25°16'36" sul e longitude 49°04'58" oeste. O clima dessa região é classificado como sendo do tipo Subtropical Úmido Mesotérmico, e apresenta uma temperatura média de 22 °C no mês mais quente e de 18 °C do mês mais frio (GRODZKI; BOEGER, 2001).

As amostras de pinhão foram coletadas dessas árvores (acessos) em diferentes épocas (março e maio) e identificadas como sendo precoces - amostras 1 a 3; e de ciclo médio - amostras de 4 a 7. O tempo de armazenamento pós-colheita das mesmas foi previamente controlado em no máximo um mês, visando a padronização das amostras.

Para os experimentos de realização da extrusão, cerca de 30 kg de pinhões foram utilizados. As amostras foram recebidas por período compreendido de maio a agosto (período de colheita) de 2013 e mantidas em embalagem de polietileno

seladas, em câmara fria a 4 °C, conforme comunicado técnico da Embrapa (FOWLER; BIANCHETTI; ZANON, 1998), até que se iniciassem os procedimentos.

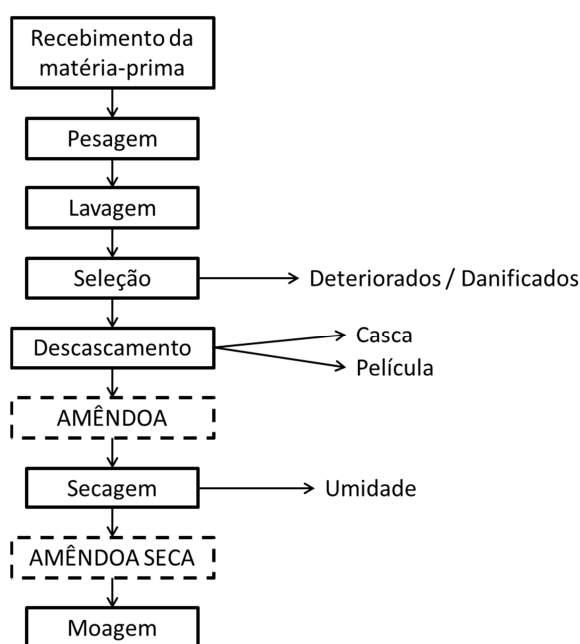
Todos os reagentes utilizados nas análises dos amidos foram de padrões analíticos fornecidos pela *Iowa State University* e as enzimas foram da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA) ou Megazyme (Wicklow, Irlanda) utilizadas sem purificação adicional.

Para a análise sensorial dos extrusados aromatizados, foram utilizados cloreto de sódio, açúcar cristal, óleo de girassol e glutamato monossódico adquiridos no comércio local, e os aromas salgados (cebola e salsa, ervas finas, presunto, queijo e bacon) e doces (baunilha, morango, banana, chocolate e canela) cedidos pelas empresas Duas Rodas Industrial e Givaudan do Brasil Ltda.

### 3.2 PREPARO DA MATÉRIA-PRIMA PARA EXTRUSÃO

Os pinhões de apenas um dos sete acessos das diferentes procedências do Banco Ativo de Germoplasma de Araucária da Embrapa Florestas foram transformados em matéria-prima para extrusão no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Usina Piloto B, do Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná e seguiu o diagrama de fluxo apresentado na FIGURA 10.

FIGURA 10 – DIAGRAMA DE FLUXO DO PREPARO DA MATÉRIA-PRIMA PARA EXTRUSÃO



As sementes foram lavadas, para remoção de sujidades, selecionadas, para remoção das em fase de deterioração e danificadas, e em seguida descascadas manualmente com o auxílio de um descascador de pinhão (FIGURA 11) e de facas para a retirada da casca e da película interna que recobre superficialmente o endosperma. A casca, película, os pinhões podres/estragados e amêndoas foram pesados para verificação do rendimento do processo.

FIGURA 11 - DESCASCADOR DE PINHÃO



Após descascadas, as amêndoas foram dispostas em bandejas e submetidas às condições de secagem (40 °C) em um secador (convectivo) de bandejas MA 035 (Marconi, Piracicaba, Brasil), como pré-processamento para produção de *snacks*, até que se obtivesse umidade próxima a 10%, conforme metodologia empregada por Borba, Sarmiento e Leonel (2005) e Santos et al. (2010) para obtenção de farinha de batata doce e de banana verde para extrusão, respectivamente. O secador operou com fluxo de ar horizontal e vazão de ar média de 18 m<sup>3</sup>.h<sup>-1</sup>.

O material desidratado foi moído em moinho de disco modelo Laboratory Mill 3600 (Perten Instruments, Hägersten, Suécia). As farinhas foram embaladas em polietileno e mantidas sob refrigeração até a realização das determinações analíticas ou dos procedimentos de extrusão.

### 3.3 CARACTERIZAÇÃO DO PINHÃO E DA MATÉRIA-PRIMA PARA EXTRUSÃO

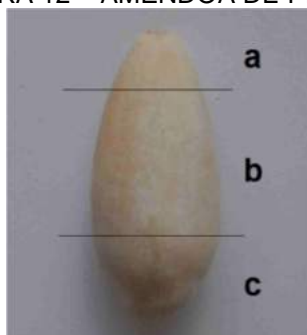
A caracterização físico-química do pinhão, da matéria-prima para extrusão e dos extrusados foi realizada no Laboratório de Química Analítica Aplicada (LQAA) e no Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA) do Setor de Tecnologia da

Universidade Federal do Paraná. As análises foram realizadas em triplicata e o resultado expresso pela média dos valores incluindo o desvio padrão.

Inicialmente, uma amostragem foi efetuada e os pinhões foram descascados manualmente com faca para análise de textura na amêndoa.

- Textura: A determinação da dureza (*Hardness*) foi medida em texturômetro modelo CT3 (Brookfield, Middleboro, EUA) equipado com o *software* “TEXTURE-PRO CT” (Brookfield, Middleboro, EUA) com ponta de prova (*probe*) cilíndrica em aço inoxidável com 2 mm de diâmetro e 20 mm de comprimento (TA 39) centralizando a amêndoa na base (TA-BT-KIT). O teste de força de compressão foi programado conforme metodologia executada por Costa (2014) cujos valores de profundidade de penetração – *Distance (Target value)* foi de 5,00 mm e velocidade (*Test speed*) de 0,5 mm.s<sup>-1</sup>. Os resultados médios da firmeza foram expressos em Newton (N) e determinados em três regiões da amêndoa (“a”, “b” e “c” conforme FIGURA 12) após a leitura realizada em vinte amostras.

FIGURA 12 – AMÊNDOA DE PINHÃO



Para a caracterização centesimal do pinhão *in natura*, da matéria-prima para extrusão (pinhão desidratado ou farinha de pinhão) e do extrusado de pinhão (tratamento central do planejamento) os teores de umidade, proteína, lipídios, cinzas e fibra alimentar foram determinados através dos protocolos 930.15, 990.03, 920.39, 942.05 e 985.29 respectivamente, da AOAC (2000):

- Umidade: realizada em estufa marca MA 035 (Marconi, Piracicaba, Brasil) à temperatura de 105 °C até massa constante;
- Proteína total: determinada pelo método *Kjeldahl*. A amostra foi digerida com solução sulfocúprica, destilada utilizando hidróxido de sódio e titulada com ácido sulfúrico. O fator de correção utilizado foi porcentagem de nitrogênio multiplicado por 6,25;

- Lipídios: determinados pela extração em aparelho Soxhlet, utilizando-se éter de petróleo como solvente;
- Cinzas: carbonização em chama e calcinação em mufla marca Quimis à 550 °C por cinco horas;
- Fibra Alimentar total: realizada por método enzimático;
- Carboidratos totais: calculada a partir da diferença entre a massa inicial da amostra (100 g) e o total da massa de proteínas, de lipídios, de resíduo mineral fixo (cinzas) e de fibra alimentar;
- Distribuição granulométrica: Foi realizada de acordo com Dias e Leonel (2006), em triplicata, por segregação de 100 g de farinha, retido no topo de peneiras padronizadas de aço inox (Newark, EUA) após 10 min de peneiramento em um equipamento vibratório ROTAP RX-29-10 (W.S. Tyler, St. Albans, WV, EUA). Sete aberturas de peneira foram selecionadas (0,18; 0,30; 0,42; 0,60; 0,85; 1,18; 1,40 mm) e uma base (fundo), a fim de obter uma distribuição normal das partículas. As frações retidas no topo de cada peneira foram pesadas em balança semianalítica GT4100 (Ohaus Precision Advanced, Florham Park, EUA). O cálculo da quantidade de partículas retidas ( $R_n$ ) em  $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$  foi realizado por gravimetria.

### 3.4 EXTRAÇÃO E ANÁLISES DOS AMIDOS DE PINHÃO

A extração do amido dos pinhões de sete acessos diferentes foi realizada na Universidade Federal do Paraná, enquanto que as demais análises dos amidos foram realizadas nos laboratórios de Química de Carboidratos localizados no departamento de *Food Science and Human Nutrition*, da *Iowa State University*, na cidade de Ames - IA, nos Estados Unidos.

A metodologia executada seguiu o Comunicado Técnico 349 da Embrapa (COSTA et al., 2014) para extração de amido de pinhão: o revestimento principal (casca espessa lignificada) e a película que adere às sementes foram removidos, assim como o gérmen (maior porção lipídica da semente). As amêndoas foram trituradas junto a um volume igual de água destilada durante 5 min. A suspensão foi peneirada (*Mesh Tyler 270* – 53  $\mu\text{m}$ ) e na sequência centrifugada em uma centrífuga, modelo Excelsa II 206 BL (FANEM, São Paulo, Brasil) a 2000 g por 5 min. O amido resultante foi lavado e centrifugado por mais três vezes. O material

resultante foi seco cuidadosamente em estufa com circulação forçada de ar marca MA 035 (Marconi, Piracicaba, Brasil) a 35 °C até se obter uma massa constante. Conforme a metodologia de Spada et al. (2010), o amido seco foi peneirado (*Mesh Tyler* 100 – 149 µm).

Para algumas análises como determinação da massa molar e raio de giro, e fracionamento do amido por cromatografia de permeação em gel (GPC) as amostras de amido necessitaram de um tratamento adicional de purificação que seguiu a metodologia de Li et al. (2008). Os amidos extraídos foram suspensos em solução aquosa 0,1 M de NaCl contendo 10% (v/v) de tolueno, e após agitação intensa durante uma hora, aguardou-se a separação de fases, removendo-se o conteúdo proteico sobrenadante. Este tratamento foi repetido até que a camada de tolueno se tornasse límpida sem conteúdo proteico. Na sequência, os amidos foram enxaguados por três vezes com água e duas vezes com etanol 100% para então serem secos em estufa a 35 °C por 48 h. O preparo das amostras para estas mesmas análises seguiu a metodologia descrita por Yoo e Jane (2002a). Alíquotas de 50 mg das amostras purificadas foram suspensas em 0,5 mL de água deionizada e então dispersas em 4,5 mL de dimetil sulfóxido (DMSO). As suspensões foram agitadas em agitador magnético com aquecimento em banho com água em fervura durante 1 h, permanecendo na sequência, sob agitação por 16 h em temperatura ambiente (aproximadamente, 20 °C).

### 3.4.1 Caracterização morfológica

#### 3.4.1.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Os grânulos de amido de pinhão foram visualizados em microscópio eletrônico de varredura Tescan Vega-3 LMU (Tescan, Brno, República Checa). As amostras foram colocadas em suporte metálico apropriado para a análise no MEV e preparadas por metalização com ouro em equipamento SCD 030 Balzers Union FL 9496 Balzers. As micrografias foram obtidas com um potencial de aceleração de 15 kV sob baixo vácuo. A aquisição das imagens foi realizada pelo Vega *software*, versão TC (Tescan, Brno, República Checa).

#### 3.4.1.2 Microscopia óptica

Para avaliar a birrefringência dos grânulos de amido de pinhão seguiu-se a metodologia descrita por Stahl et al. (2007). As amostras foram dispersas em solução aquosa de glicerol 50% (v/v) e avaliadas em microscópio óptico binocular modelo Labophot (Nikon, Tokyo, Japão), com uma amplificação de 400X, equipado com luz polarizada. O *software* utilizado para captação das imagens foi o Infinity Capture Application (Lumenera, Ottawa, Canadá) versão 6.2.0.

#### 3.4.1.3 Difração de raios X

A análise de difração de raios X foi realizada de acordo o procedimento descrito por Song e Jane (2000) com algumas modificações. Inicialmente, as amostras de amido foram equilibradas em uma câmara de umidade relativa de 100% durante 24 h à temperatura ambiente (aproximadamente, 20 °C). Os padrões de raios X foram então determinados com radiação de cobre  $K\alpha$  usando um difratômetro (Ultima IV, Rigaku, Tóquio, Japão), operando a 40 kV e 44 mA. A região de escaneamento no ângulo dois-teta ( $2\theta$ ) foi de 3 a 40°, com um tamanho de passo de 0,05° e um tempo de contagem de 2 s. A cristalinidade relativa foi quantitativamente calculada baseando-se na relação entre a área dos picos e área total dos difratogramas (NARA; KOMIYA, 1983), e utilizando o *software* Origin versão 7.5 (Microcal Inc., Northampton, EUA).

#### 3.4.2 Caracterização estrutural

A caracterização estrutural dos amidos de pinhão envolveu a determinação do teor de amilose por titulação potenciométrica (TAKEDA; HIZUKURI, 1987; SONG; JANE, 2000), massa molar ( $M_w$ ) e raio de giro ( $R_z$ ) da amilopectina utilizando *HPSEC-MALLS-RI* (YOO; JANE, 2002a), fracionamento por cromatografia de permeação em gel (GPC) (SETIAWAN et al., 2010) e a caracterização dos comprimentos e distribuição das cadeias ramificadas de amilopectina por eletroforese capilar de fluorescência assistida (*FACE*) (MORELL; SAMUEL; O'SHEA, 1998; LI et al., 2008; JIANG et al., 2010).



### 3.4.2.1 Determinação do conteúdo de amilose

Uma alíquota de 100 mg (b.s.) de cada amido desengordurado foi agitada por 30 min em um bequer de 250 mL contendo 1 mL de água deionizada e 5 mL de KOH 1 N; na sequência, 2-3 gotas de alaranjado de metila foram adicionados e a solução foi neutralizada com HCl 0,5 N. Foram adicionados 10 mL de solução de KI 0,5 M e a massa da solução final no bequer foi ajustada para 100,9 g, a qual corresponde a 100 mL de água a 30 °C. O mesmo foi colocado em banho a 30 °C e utilizando um auto-titulador potenciométrico 702 SM Titrino (Metrohm, Herisau, Suíça) uma solução estoque de iodo (8,3 g KI, 0,2 g I<sub>2</sub> e 3,7 g KCl para 100 mL), diluída 10 vezes (em 1000 mL), foi titulada. O equipamento foi calibrado com solução EMF (373 mg KCl, 830 mg KI e 100 mL de água deionizada). O conteúdo de amilose foi calculado pela divisão por 20% da afinidade do amido desengordurado por iodo.

### 3.4.2.2 Determinação da massa molar e raio de giro da amilopectina

O preparo das amostras seguiu o procedimento de Yoo e Jane (2002a) já descrito anteriormente (item 3.4). Na sequência, alíquotas (0,5 mL) das amostras (contendo 1,0% de amido) pré-preparadas, foram misturadas com cinco volumes de etanol (2,5 mL) para precipitação do amido. O precipitado em etanol foi separado por centrifugação em uma centrífuga modelo RC-5B *plus* (Sorvall, Newtown, EUA) a 6750 *g* por 20 min. O *pellet* de amido foi redissolvido em água destilada-deionizada fervente (12 mL), água previamente filtrada em membrana de nylon de 0,22 µm (Whatman, Darmstadt, Alemanha) e, na sequência, foi mantido sob agitação por 30 min em banho fervente. A solução ainda quente foi filtrada em filtro de membrana de nylon de 5,0 µm modelo Magna (Krackeler Scientific, Albany, EUA).

A determinação da massa molar média ( $M_w$ ) e a média do raio de giro ( $R_z$ ) das amostras foram determinadas empregando-se as técnicas de cromatografia de exclusão por tamanho de alta performance em sistema HPSEC LC Agilent HP series 1050 (Hewlett Packard, Valley Forge, EUA), acoplada ao espalhamento de luz laser com multiângulos Dawn DSP (Wyatt Technology, Santa Barbara, EUA) e um detector de índice de refração G1362A (Agilent, Santa Clara, EUA) (*HPSEC-MALLS-RI*). Para separar a amilopectina da amilose, foram usadas uma pré-coluna Shodex OH pak

KB-G seguida de outras duas colunas analíticas: SB-806 e SB-804. A fase móvel foi água destilada-deionizada (água ultrapura, 18,2 MΩ.cm, filtrada 0,22 µm - sistema Milli-Q) pressão de 96-107 psi a 50 °C. A análise foi realizada utilizando-se injeções de 100 µL de solução (0,417 mg.mL<sup>-1</sup>) a 50 °C em *HPSEC-MALLS-RI*, com fluxo de 0,6 mL.min<sup>-1</sup>. Para obtenção e interpretação dos resultados o *software* utilizado foi o ASTRA versão 4.7.07 (Wyatt Technology, Santa Barbara, EUA).

#### 3.4.2.3 Fracionamento por cromatografia de permeação em gel (GPC)

Após o preparo das amostras (item 3.4), alíquotas (0,5 mL) contendo 5 mg de amido foram misturadas com quatro volumes de etanol (2 mL) para precipitação do amido. O etanol precipitado foi separado por centrifugação a 6750 *g* por 10 min. O *pellet* de amido foi redissolvido em água ultrapura (sistema Milli-Q) fervente (2 mL), água previamente filtrada em filtro de membrana de 0,22 µm e, na sequência, foi magneticamente agitado em banho fervente durante 15 min. A solução ainda quente foi filtrada em filtro de membrana (5,0 µm) e aplicada em uma coluna (1,0 cm de diâmetro e 40,0 cm de altura) empacotada com o gel Sepharose CL-2B. A amostra eluiu de forma descendente, por ação da gravidade com fluxo de 0,7 mL.min<sup>-1</sup>. O eluente utilizado foi preparado a partir de 3,2 g de NaOH 50% (m/m), 58,44 g de NaCl e 8 g de azida sódica em 1 L de água ultrapura (sistema Milli-Q). O mesmo foi filtrado (filtro de membrana de 0,22 µm) e após diluição (40 vezes), foi degaseificado durante 15-20 min.

Cinquenta frações de 50 gotas cada foram coletadas com o uso do equipamento coletor automático de frações marca Bio-rad modelo 2110 (Bio-rad, Hercules, EUA), e submetidas à análise de carboidratos totais (*CHO*), por intermédio do método de fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1956) e reação de coloração com iodo - valor azul (*blue value* - *BV*) (JULIANO, 1971). Para a realização destas análises, uma solução de fenol 5% (v/v) foi preparada. Em tubos de vidro identificados, 200 µL de cada fração da amostra foram misturados com 200 µL da solução de fenol 5% e pipetou-se 1 mL de ácido sulfúrico concentrado diretamente sobre a amostra. Estes tubos foram agitados em vortex e resfriados à temperatura ambiente (20 °C) por 20 min. Na sequência, 200 µL da solução de cada tubo foram transferidos para uma microplaca (96 poços), tomando-se o cuidado de identificar cada fração. Uma solução estoque de iodo em iodeto de potássio, I<sub>2</sub>/KI (0,1 g I<sub>2</sub> e 1,0 g KI em 100 mL

de tampão acetato 0,1 M, pH 5,0) foi preparada e diluída cinco vezes em água deionizada. Tomando-se o mesmo cuidado na identificação das frações, em outra microplaca (96 poços), foram misturados 100 µL de cada fração da amostra junto à 100 µL desta solução de iodo diluída. Os valores das absorbâncias das soluções contidas nas microplacas foram obtidos em uma leitora de microplacas modelo ELX 808 (Bio-tek Instruments, Winooski, EUA) a 490 nm e 630 nm, respectivamente.

#### 3.4.2.4 Distribuição dos comprimentos de cadeias ramificadas de amilopectina

##### *Isolamento da amilopectina*

As amilopectinas dos amidos de pinhão foram obtidas após a separação das frações dos amidos por GPC. O conteúdo dos tubos correspondentes à amilopectina foram concentrados a aproximadamente quatro vezes o volume, sob pressão reduzida em um rotaevaporador Büchi, modelo Brinkmann Rotavapor-R (Büchi, Flawil, Suíça) a 45 °C. Na sequência, as amostras foram suspensas em seis vezes o seu volume em etanol absoluto para armazenamento sob refrigeração.

##### *Desramificação das cadeias de amilopectina*

As amostras de amilopectina suspensas em álcool foram centrifugadas a 6750 g durante 20 min. Os sobrenadantes foram descartados e os precipitados foram solubilizados em cerca de 2 mL de água ultrapura (sistema Milli-Q) fervente (filtrada em 0,22 µm). Na sequência, as soluções foram mantidas sob agitação magnética em banho fervente durante 30 min. Deixou-se esfriar à temperatura ambiente (aproximadamente, 20 °C) e adicionou-se a cada solução 0,2 mL de solução tampão acetato 100 mM, pH 3,5 com 0,2% de azida sódica. Uma alíquota de 2 µL da enzima isoamilase (1000 U.mL<sup>-1</sup>) (Megazyme, Wicklow, Irlanda) foi misturada às soluções que foram mantidas a 40 °C em banho de água com agitação durante 16 h. Após este período, a enzima foi desnaturada mantendo as soluções em banho de água fervente por 15 min e a mesma, ainda quente, foram filtradas em filtro de membrana (0,45 µm) modelo Magna (Krackeler Scientific, Albany, EUA).

##### *Preparo das amostras desramificadas para eletroforese capilar de fluorescência (FACE - Fluorophore-assisted capillary electrophoresis)*

A suspensão de cada amostra obtida da desramificação foi distribuída em seis tubos de *eppendorf*, contendo 80 µL em cada, e estes foram centrifugados à

vácuo (CentriVap Concentrator, Labconco, EUA) a 40 °C durante 4-5 h. Em dois tubos contendo a amostra seca, foram adicionados 2 µL de NaBH<sub>3</sub>CN (cianoborohidreto de sódio) 1 M e 2 µL de ácido 8-amino-1,3,6 pirenosulfônico (APTS) (Sigma Chemical Co., St. Louis, EUA) 0,2 M, enquanto os demais tubos foram mantidos sob refrigeração. A mistura foi incubada à 40 °C durante 16 h e então, adicionou-se 46 µL de água ultrapura (sistema Milli-Q). Uma alíquota de 25 µL foi diluída em 175 µL água ultrapura (sistema Milli-Q) e utilizada para a análise.

#### *Eletroforese capilar de fluorescência (FACE)*

A análise de eletroforese capilar de fluorescência foi realizada para determinar a distribuição dos comprimentos das cadeias ramificadas da amilopectina derivatizadas com APTS. O equipamento utilizado foi um Sistema de Eletroforese Capilar, modelo P/ACE MDQ Glycoprotein System equipado com um detector de fluorescência induzida por laser (488 nm) (Beckman Coulter, Pasadena, EUA), injetor e amostrador automáticos e conectado ao *software* P/ACE System MDQ (Beckman Coulter, Pasadena, EUA) para coleta dos dados – eletroferogramas. O capilar usado foi eCAP<sup>TM</sup> neutro revestido. Para acondicionar o capilar antes das injeções, este foi lavado com tampão de corrida (PA 800 *plus* – *N-Linked Carbohydrate Separation Gel Buffer*) (Beckman Coulter, Pasadena, EUA). Entre as injeções, o capilar foi enxaguado com solução de NaOH 0,1 N (HPCE *Grade*) (Beckman Coulter, Pasadena, EUA) e água ultrapura (sistema Milli-Q) por 2 e 3 min, cada. As amostras foram introduzidas por injeção sob pressão a 30 psi por 10 min.

### 3.4.3 Propriedades térmicas

#### 3.4.3.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Utilizada para detectar as transições térmicas da gelatinização dos grânulos de amido e da dissociação de amidos retrogradados, a análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC) seguiu a metodologia descrita por Song e Jane (2000). As curvas foram obtidas usando um calorímetro exploratório diferencial modelo DSC-7 (Perkin Elmer, Waltham, EUA), em fluxo de nitrogênio de 20 mL.min<sup>-1</sup>, em uma faixa de 20 a 100 °C, com taxa de aquecimento de 10 °C.min<sup>-1</sup> e amostra com cerca de 3,0 mg. Uma proporção 3:1 de água:amido (v/m) foi preparada em

cadinhos de alumínio - kit n. 0219-0062 (Perkin Elmer, Waltham, EUA). Os mesmos foram imediatamente selados e deixados por 2 horas à temperatura ambiente (20 °C) antes de aquecimento no equipamento de DSC. A calibração foi feita com índio 99,99% de pureza, PF = 156,6 °C,  $\Delta H = 28,56 \text{ J.g}^{-1}$ . Um cadinho vazio foi usado como referência durante as análises. A entalpia de gelatinização ( $\Delta H$ , expressa em  $\text{J.g}^{-1}$ ) foi obtida através da integração da curva endotérmica obtida pelo equipamento, utilizando o *software Pyris* (Perkin Elmer, Waltham, EUA), baseado na massa de amido utilizada na análise, em base seca. As temperaturas de gelatinização (inicial, de pico e de conclusão -  $T_0$ ,  $T_p$  e  $T_c$ , respectivamente) para os grânulos de amidos e de dissociação para amidos retrogradados foram obtidas pelo termograma.

#### 3.4.4 Gelatinização e retrogradação do gel

O grau de sinérese foi obtido pela quantificação da massa de água exsudada de uma pasta de amido a 5% (m/m) preparada por aquecimento a 95 °C, com agitação por 30 min (BILIADERIS, 1982; ELIASSON; RYANG, 1992). Após a formação do gel do amido em tubos de centrífuga (tipo Falcon de 50 mL) com tampa, as mesmas foram armazenadas a -20 °C. As medidas foram realizadas após três ciclos de congelamento e descongelamento: 24, 48 e 72 h de armazenamento. As amostras foram filtradas a vácuo e a determinação da massa da água liberada (sinérese) foi calculada de acordo com a equação (1):

$$S = \frac{MS}{MT} \cdot 100 \quad (1)$$

Onde,  $S$  corresponde à sinérese (%);  $MS$ , massa de água do sobrenadante (g);  $MT$ , massa total da pasta (g).

#### 3.4.5 Solubilidade em água e poder de inchamento (PI)

Conforme metodologia empregada por Stahl et al. (2007), suspensões contendo 1% (m/v) das amostras de amido de pinhão foram preparadas pesando-se 0,1 g de amido (b.s.) e 10 mL de água destilada diretamente em tubos de centrífuga. As suspensões foram homogeneizadas em vortex e em seguida, aquecidas em banho de água com agitação durante 30 min nas temperaturas da faixa de

gelatinização do amido (55, 75 e 95 °C), sendo cada experimento em uma temperatura. Na sequência, as suspensões foram resfriadas em banho de gelo durante 10 min e centrifugadas a 6750 g durante 20 min. O sobrenadante foi seco em estufa a 105 °C até atingir massa constante (aproximadamente 4 h) ( $m_{Sob.seco}$ ), e a massa do precipitado (gel) que permaneceu no fundo do tubo de centrífuga foi obtida ( $m_{Precipitado}$ ).

O índice de solubilidade em água (% S) e o PI em  $g/g_{amostra\ seca}$  das amostras foram obtidos a partir das equações (2) e (3), respectivamente.

$$S = \frac{m_{Sob.seco}}{m_{Amido}} \cdot 100\% \quad (2)$$

$$PI = \frac{m_{Precipitado} \cdot 100}{m_{Amido} (100\% - S)} \quad (3)$$

Onde  $S$  é a solubilidade dada em %;  $PI$ , é o poder de inchamento ( $g/g_{amostra\ seca}$ ).

#### 3.4.6 Claridade de pasta

Para análise de claridade de pasta seguiu-se a metodologia de Craig et al. (1989), na qual suspensões de amido foram preparadas na concentração de 1% (m/v) em 10 mL de água, e aquecidas, durante 30 min, em banho com água fervente com agitação. A solução foi então resfriada à temperatura ambiente (aproximadamente, 20 °C) e a transmitância foi detectada a 650 nm utilizando-se um espectrofotômetro Beckman modelo DU 520 (Beckman Coulter, Pasadena, EUA) e água como branco, nos períodos de 30 min e 24 h.

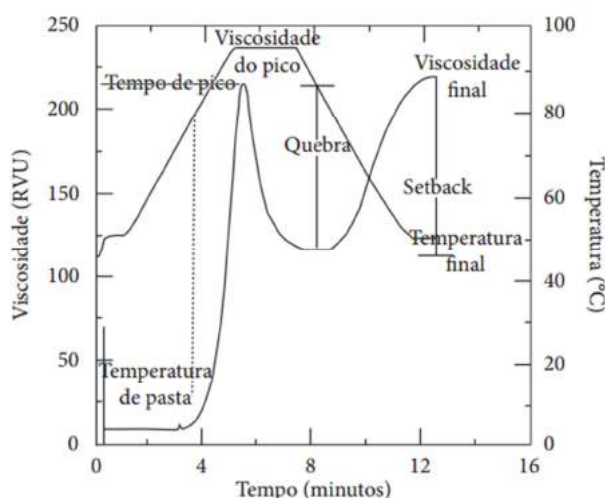
#### 3.4.7 Propriedades viscoamilográficas

A viscosidade aparente da pasta dos amidos de pinhão foi determinada em um *Rapid Visco Analyzer* (RVA), conforme metodologia executada por Song e Jane (2000). Foi preparada uma suspensão de massa total de 28 g contendo 8% de amido (m/m em b.s.) em água deionizada, e a mesma foi submetida à leitura da viscosidade em um rápido visco-analisador modelo RVA-4 (Newport Scientific,

Warriewood, Austrália) utilizando-se o software *Thermocline for Windows* versão 1.10 para coleta e pré-processamento dos dados.

Foi utilizado o método *Standard 2*, o qual possui o seguinte regime de tempo/temperatura: 50 °C durante 1 min, seguido de aquecimento até 95 °C a uma taxa de 6 °C.min<sup>-1</sup>. Houve manutenção da pasta a 95 °C por 5 min e resfriamento de 95 a 50 °C a uma taxa de 6 °C.min<sup>-1</sup>. Durante todo o experimento o RVA manteve as suspensões sob agitação a 160 rpm. A viscosidade foi expressa em cP (centipoise). Do gráfico obtido (FIGURA 13) foram detectadas a temperatura de empastamento; pico de viscosidade, que é a viscosidade máxima obtida após o início do aquecimento e antes do início do resfriamento; quebra de viscosidade - *breakdown*, que é a diferença entre a viscosidade máxima e mínima durante a manutenção a 95 °C; tendência à retrogradação - *setback*, que é a diferença entre a viscosidade final e o menor valor de viscosidade durante a manutenção a 95 °C; e viscosidade final.

FIGURA 13 - PARÂMETROS AVALIADOS EM UMA CURVA DE VISCOSIDADE TÍPICA DO RVA



FONTE: Adaptado de NEWPORT SCIENTIFIC (1998).

### 3.4.8 Digestibilidade *in vitro*

#### 3.4.8.1 Determinação do amido total

A análise de amido total foi realizada utilizando-se o kit de ensaio *Total Starch* da *Megazyme* (*K-TSTA*) seguindo-se as instruções do fabricante (MEGAZYME, 2011b).

Alíquotas de 100 mg das amostras foram pesadas em tubos de centrífuga (tipo Falcon de 50 mL) com tampa. Em todas as amostras, foram adicionados 0,2 mL de etanol aquoso (80% v/v) para dispersão do material, e os tubos foram agitados em um vortex. Uma barra magnética foi adicionada, além de 2 mL de KOH 2 M e a suspensão foi mecanicamente agitada enquanto deixada em banho com gelo durante 20 min. Na sequência, 8 mL de solução tampão acetato de sódio 1,2 M (pH 3,8) foram adicionados aos tubos e agitou-os novamente. Imediatamente, foram adicionados 0,1 mL de  $\alpha$ -amilase termo-estável ( $3000 \text{ U.mL}^{-1}$ ) e 0,1 mL de amiloglucosidase (AMG) ( $3300 \text{ U.mL}^{-1}$ ). Os tubos foram agitados intensamente e incubados por 30 min  $50^\circ\text{C}$ .

Como se sabe que as amostras analisadas continham mais que 10% de amido total, a barra magnética foi removida dos tubos e as amostras foram diluídas em balões volumétricos de 100 mL (usando-se água deionizada). Cerca de 2 mL desta solução foram centrifugados em uma centrífuga Sorvall, modelo RC-5B *plus* (Sorvall, Newtown, EUA) a  $1500 g$  durante 10 min, e uma alíquota de 0,1 mL do sobrenadante foi transferido para outro tubo no qual 3 mL de reagente GOPOD (oxidase e peroxidase) foram adicionados. Preparou-se o branco misturando-se 0,1 mL de água deionizada e 3 mL da solução reagente GOPOD, e o padrão D-glicose (em quadruplicata) misturando-se 0,1 mL de D-glicose ( $1 \text{ mg.mL}^{-1}$ ) e 3 mL de reagente GOPOD. Estes tubos foram incubados novamente a  $50^\circ\text{C}$  durante 20 min e as absorbâncias das amostras foram obtidas a um comprimento de onda de 510 nm em um espectrofotômetro Beckman modelo DU 520 (Beckman Coulter, Pasadena, EUA). Para o cálculo do amido total utilizou-se o programa Mega-Calc<sup>TM</sup> (MEGAZYME, 2011b).

#### 3.4.8.2 Determinação do amido resistente na matéria-prima e nos amidos

A análise de amido resistente seguiu a metodologia de Englyst (ENGLYST; KINGMAN; CUMMINGS, 1992; Al et al., 2013).

Para a matéria-prima e os amidos de pinhão, a etapa de cozimento foi necessária, uma vez que estes alimentos não são consumidos de forma direta, ou seja, exigem um pré-preparo. Sendo assim, as amostras foram pesadas baseando-se em 500 mg do conteúdo de amido (b.s.), e às mesmas foram adicionados 25 mg de goma guar, cuja função era de aumentar a viscosidade e simular as condições



fisiológicas humanas da digestão, e 10 mL de solução tampão acetato de sódio 0,1 M (pH 5,2) contendo 4 mL de  $\text{CaCl}_2$  1 M para 1 L e 0,02% (m/m) de azida sódica. Posteriormente, adicionou-se uma barra magnética e sob agitação as suspensões foram cozidas em banho de água fervente durante 30 min. Um branco contendo 25 mg de goma guar e 10 mL de solução tampão acetato de sódio 0,1 M (pH 5,2) foi feito.

Neste intervalo, o preparo da enzima foi realizado misturando-se 3 g de pancreatina do pâncreas suíno (P7545,8 x USP, Sigma Aldrich) a 20 mL de água deionizada. A mistura foi deixada sob agitação magnética por 10 min sendo na sequência centrifugada a 1500 g durante 10 min. Uma alíquota de 13,5 mL de sobrenadante foi misturada com 1,5 mL de amiloglucosidase (AMG) (A 7095, 300  $\text{U.mL}^{-1}$  - Sigma Aldrich) diluída ( $140 \text{ U.mL}^{-1}$ ) e 10 mg de invertase (I 4504,  $>300 \text{ U.mg}^{-1}$  - Sigma Aldrich) em 1 mL de água deionizada.

Cinco esferas de vidro (diâmetro 5 mm) foram adicionadas às amostras resfriadas até 37 °C e 2,5 mL de solução enzimática foram colocados em cada tubo em um tempo específico. Os mesmos foram agitados e submersos em um banho FS modelo 224 (Fisher Scientific, Pittsburgh, EUA) a 37 °C no sentido horizontal alinhado à direção do movimento com agitação de 160 bpm.

Após 20 minutos, 0,25 mL dos hidrolisados contidos nos tubos identificados foram coletados e inseridos em tubos de centrífuga (tipo Falcon de 15 mL) contendo 10 mL de etanol aquoso (66% v/v) – identificados como  $G_{20}$ . Os tubos contendo os hidrolisados foram imediatamente retornados ao banho com agitação para dar continuidade à reação, a qual foi finalizada aos 120 min. Neste tempo, novamente foram coletados mais 0,25 mL e inseridos em outros tubos de centrífuga contendo 10 mL de etanol aquoso (66% v/v) – identificados como  $G_{120}$ . Todos esses tubos foram agitados intensamente em um agitador de tubos durante pelo menos 30 s, e foram centrifugados a 1000 g durante 5 min.

O reagente GOPOD do kit de ensaio *D-GLUCOSE* (GOPOD Format, *K-GLUC*) foi preparado seguindo-se as instruções do fabricante (MEGAZYME, 2011a). Alíquotas de 0,1 mL dos sobrenadantes das amostras centrifugadas e do branco, bem como de padrão de glicose ( $1 \text{ mg.mL}^{-1}$ ) foram adicionados a 3 mL do reagente GOPOD em tubos identificados, e as soluções foram agitadas. Os tubos foram incubados a 50 °C durante 20 min e após atingirem a temperatura ambiente

(aproximadamente, 20 °C) a absorvância das amostras foram detectadas a um comprimento de onda de 510 nm.

Para o cálculo do amido resistente foram utilizadas as equações (4), (5) e (6):

$$\% D - \text{glicose} = \frac{A_a.V.C.D}{A_p.m}.100 \quad (4)$$

Onde:

$A_a$  = absorvância da amostra;

$V$  = volume total da solução de amostra;

$C$  = concentração do padrão de glicose (mg glicose.mL<sup>-1</sup>);

$D$  = fator de diluição;

$A_p$  = absorvância do padrão de glicose;

$m$  = massa da amostra (mg).

Tendo-se em vista que no amido a D-glicose se apresenta como D-glicose anidra, utilizou-se a equação (5) para o cálculo:

$$\% D - \text{glicose anidra} = \% D - \text{glicose} \cdot \frac{162}{180} \quad (5)$$

Onde:

$162/180$  = fator para converter a D-glicose livre para D-glicose anidra, (180 = massa molecular D-glicose livre e 162 = massa molecular da glicose anidra).

E a porcentagem de amido resistente foi obtida segundo a equação (6):

$$\% AR = \frac{AT - ARD - ALD}{AT}.100\% \quad (6)$$

Onde:

$AR$  = amido resistente;

$AT$  = amido total;

$ARD$  = amido rapidamente digerido (dentro de 20 minutos);

$ALD$  = amido lentamente digerido (dentro 20 e 120 minutos).

#### 3.4.9 Análise estatística - amido de pinhão

As análises das amostras de amidos de pinhão foram realizadas em duplicatas. Os resultados foram apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. Todas

as variáveis tiveram sua normalidade checada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e a homogeneidade de variâncias pelo teste de Hartley utilizando o *software* STATISTICA 10.0 (StatSoft, Tulsa, EUA). Análise de variância (ANOVA) foi aplicada para detectar diferença significativa entre as amostras de amido de pinhão para cada análise que foi realizada. Quando diferenças significativas foram detectadas pela análise de variância ( $p \leq 0,05$ ), o teste de Tukey a 5% foi usado para comparar as médias. Correlação de Pearson ( $r$ ) foi usada para avaliar o grau de associação entre as variáveis avaliadas. Um valor de  $p$  abaixo de 0,05 foi considerado para indicar diferença significativa (GRANATO; CALADO; JARVIS, 2014).

### 3.5 EXTRUSÃO

#### 3.5.1 Execução do planejamento

Durante a elaboração dos produtos extrusados alguns testes iniciais foram realizados para definir os limites das variáveis de processo. Os levantamentos bibliográficos e as especificações do equipamento definiram os tratamentos (variações nos parâmetros) e consequentemente, o tipo de delineamento experimental a ser empregado.

Para avaliar o efeito combinado das variáveis independentes ou preditoras nas características dos extrusados, um delineamento experimental do tipo central composto rotacional (DCCR) de segunda ordem (BOX; HUNTER; HUNTER, 1978) foi utilizado. Os parâmetros do processo estabelecidos como variáveis independentes foram estudados em níveis codificados como -1, 0 e +1.

Esse delineamento apresenta também dois níveis de variáveis axiais que foram codificados como  $-\alpha$  e  $+\alpha$ , cujo valor depende do número fatorial ( $F = 2^k$ ) do delineamento e do número de variáveis independentes (neste caso,  $k = 3$ ), sendo o valor definido pela equação (7).

$$\alpha = (F)^{\frac{1}{4}} = (2^k)^{\frac{1}{4}} = 1,681 \quad (7)$$

Dessa forma, o experimento foi composto por oito ensaios referentes ao planejamento fatorial completo proposto ( $2^3$ ), pela triplicata no ponto central, e por mais seis ensaios referentes aos pontos axiais ( $2 \times 3$ ), totalizando dezessete ensaios. As variáveis foram: porcentagem de umidade da matéria-prima para extrusão,

velocidade de rotação do parafuso, e perfil de temperatura da terceira zona de aquecimento da extrusora. Os valores codificados e reais das variáveis independentes estão apresentados na TABELA 3. Na TABELA 4 estão apresentados o número de tratamentos e os níveis codificados e reais de umidade [ $\text{g} \cdot (100\text{g})^{-1}$ ], rotação (rpm) e temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) utilizados para cada um.

TABELA 3 - NÍVEIS CODIFICADOS E REAIS DE UMIDADE (U), VELOCIDADE DE ROTAÇÃO (R) E TEMPERATURA (T) UTILIZADAS NO ENSAIO DE EXTRUSÃO

Variável independente	Níveis codificados e reais				
	$-\alpha=-1,68$	-1	0	1	$+\alpha=1,68$
U [ $\text{g} \cdot (100\text{g})^{-1}$ ]	14	15,5	18	20,5	22
R (rpm)	100	130	175	220	250
T ( $^{\circ}\text{C}$ )	120	136	160	184	200

U, umidade; R, rotação; T, temperatura.

TABELA 4 - DELINEAMENTO EXPERIMENTAL UTILIZADO PARA O ESTUDO DO EFEITO DA UMIDADE DA MATÉRIA-PRIMA, VELOCIDADE DE ROTAÇÃO E TEMPERATURA DE EXTRUSÃO SOBRE A QUALIDADE DOS SNACKS

Tratamentos	Variáveis independentes					
	Valores codificados			Valores reais		
	Umidade	Rotação	Temperatura	U [ $\text{g} \cdot (100\text{g})^{-1}$ ]	R (rpm)	T ( $^{\circ}\text{C}$ )
1	-1	-1	-1	15,5	130	136
2	+1	-1	-1	20,5	130	136
3	-1	+1	-1	15,5	220	136
4	+1	+1	-1	20,5	220	136
5	-1	-1	+1	15,5	130	184
6	+1	-1	+1	20,5	130	184
7	-1	+1	+1	15,5	220	184
8	+1	+1	+1	20,5	220	184
9	0	0	0	18	175	160
10	0	0	0	18	175	160
11	0	0	0	18	175	160
12	-1,68	0	0	14	175	160
13	+1,68	0	0	22	175	160
14	0	-1,68	0	18	100	160
15	0	+1,68	0	18	250	160
16	0	0	-1,68	18	175	120
17	0	0	+1,68	18	175	200

U, umidade; R, rotação; T, temperatura.

### 3.5.1.1 Acondicionamento da umidade

As farinhas foram acondicionados em diferentes níveis de umidade (TABELA 4) conforme valores estipulados no planejamento experimental. Para cada tratamento foram preparados 600 g de mistura (farinha e água). Na umidificação, água destilada foi borrifada manualmente sobre a farinha e revolvidas em um misturador. A quantidade de água a ser adicionada às amostras foi calculada

conforme a equação (8), considerando-se a massa do material a ser extrusado e a sua umidade inicial.

$$Q = \left[ \frac{(100 - U_i)}{(100 - U_f)} - 1 \right] \cdot m \quad (8)$$

Onde:  $Q$  é a quantidade de água adicionada (g);  $U_i$ , umidade inicial da amostra [g (100 g)<sup>-1</sup>];  $U_f$ , umidade final desejada [g (100 g)<sup>-1</sup>];  $m$ , massa de material acondicionado (g).

Após esta etapa, as amostras foram armazenadas *overnight* em sacos de polietileno de baixa densidade a  $5 \pm 1$  °C, para garantir a homogeneização completa da umidade. Antes do início da extrusão, aguardou-se até que as amostras atingissem a temperatura de aproximadamente 25 °C.

### 3.5.2 Ensaios de extrusão

A execução da extrusão foi realizada no Laboratório de Cereais e de Extrusão de Alimentos da Embrapa Agroindústria de Alimentos (Rio de Janeiro).

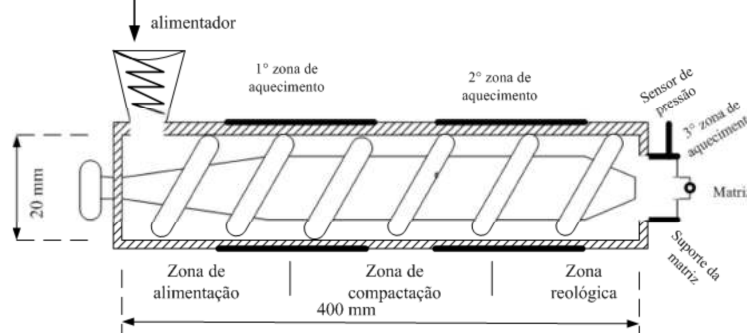
Utilizou-se uma extrusora monorosca Brabender 19/20 DN acoplada a um reômetro de torque PlastCorder LabStation (limitado a 150 N.m de torque), ambos da marca Brabender (Duisburg, Alemanha). (FIGURA 14) com controle de temperatura em três zonas ao longo do cilindro, sensor de pressão imediatamente anterior à parede interna da matriz, rosca de alimentação e rosca principal com controle de velocidade.

FIGURA 14 - EXTRUSORA BRABENDER 19/20 DN (DUISBURG, ALEMANHA) UTILIZADA NA PRODUÇÃO DE EXTRUSADOS DE PINHÃO



O cilindro apresenta diâmetro interno de 20 mm, com ranhuras longitudinais internas por toda sua extensão, e a relação entre comprimento e diâmetro de 20:1. Um cilindro menor (70,6 mm de comprimento e 10 mm de diâmetro interno) foi rosqueado ao cilindro principal da extrusora, e serviu como suporte à terceira resistência elétrica de aquecimento, ao sensor de pressão e à matriz (FIGURA 15). O sensor de pressão foi rosqueado à parede do cilindro menor, de forma a permanecer em contato com a massa extrusada para registro da pressão estática. A rosca utilizada nos experimentos foi 4:1.

FIGURA 15 - ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DA EXTRUSORA MONOROSCA UTILIZADA NO EXPERIMENTO



FONTE: FRAIHA (2008).

O *software* utilizado como instrumento de auxílio no processo de extrusão foi o *Brabender extruder Program (CAN) – Basic Program with Multiple Evaluation/Version 4.4.0*.

Dentre os parâmetros de obtenção de extrusados expandidos, alguns foram mantidos fixos: temperatura do cilindro da extrusora nas 1ª e 2ª zonas (50 e 100 °C, respectivamente), matriz (3 mm), taxa de alimentação (5 kg h<sup>-1</sup>), velocidade de rotação do alimentador vertical (25 rpm). Três parâmetros foram variados: umidade de processamento da matéria-prima (14 a 22%); velocidade de rotação do parafuso (100 a 250 rpm); e perfil de temperatura da 3ª zona de aquecimento (120 a 200 °C).

As amostras dos experimentos só foram introduzidas na calha de alimentação quando a temperatura e rotação da rosca atingiram os valores desejados. Houve descarte do produto gerado inicialmente, sendo aproveitado apenas o material coletado após o processo atingir o equilíbrio, verificado pela estabilidade do torque do reômetro registrado no monitor do computador.

As amostras foram recolhidas, secas em estufa com circulação de ar a 50 °C, por 24 h para se obter maior crocância (NASCIMENTO et al., 2012). Em

seguida, parte foi destinada à análise sensorial, e parte foi moída em moinho de disco modelo Laboratory Mill 3600 (Perten Instruments, Hägersten, Suécia) e na sequência, moinho de martelos modelo Laboratory Mill 3100 (Perten Instruments, Hägersten, Suécia). Todo o material foi embalado em sacos de polietileno de baixa densidade e armazenados a  $5 \pm 1$  °C até a realização das análises.

### 3.5.2.1 Determinação da vazão

No momento da ocorrência do cozimento por extrusão, o binômio tempo e temperatura é uma das principais causas da transformação desses alimentos. A vazão média constitui um indicador indireto da retenção do material no cilindro extrusor (correspondente ao tempo de residência). A vazão em cada tratamento foi determinada segundo metodologia de Carvalho et al. (2010b), em triplicata, pela coleta de uma quantidade de amostra extrusada no período de 30 s, com a máquina operando no regime programado. Para minimizar a perda de massa por evaporação as amostras foram coletadas imediatamente em sacos plásticos à saída da matriz, e foram pesadas na sequência.

### 3.5.2.2 Determinação da energia mecânica específica (EME)

O torque, pressão medida entre a segunda e última zona de aquecimento coincidindo com o final de curso de parafuso frontal e temperatura da massa fundida foram registrados pelo *software WinExt* (Brabender, Duisburg, Alemanha) após um período mínimo de variação do torque e da pressão.

A energia mecânica específica corresponde à quantidade de energia necessária para processar o material dentro da extrusora para fora da mesma através da matriz, cujos fatores dependentes são a potência do motor e a quantidade total de material processado por um determinado período de tempo. A EME foi calculada de acordo com Fan, Mitchell e Blanshard (1996), usando a equação (9).

$$EME = \frac{\text{entrada energia mecânica}}{\text{taxa de fluxo mássico}} = \frac{T \cdot \omega \cdot n}{Q} \quad (9)$$

Onde,

$EME$  = energia mecânica específica ( $J.kg^{-1}$ );

$T$  = torque gerado pelo parafuso ( $N.m$ );

$\omega$  = velocidade angular ( $rad.s^{-1}$ );

$n$  = número de parafusos;

$Q$  = vazão ( $kg.h^{-1}$ );

### 3.6 ANÁLISES DOS EXTRUSADOS

Os extrusados foram avaliados logo após a extrusão e antes da secagem quanto a: umidade ( $U_e$ ) em triplicata por gravimetria, método 930.15 da AOAC (2000); densidade aparente (FAN; MITCHELL; BLANSHARD, 1996), propriedades de expansão (IES, IEL e IEV) (ALVAREZ-MARTINEZ; KONDURY; HARPER, 1988); e após a secagem: análise das propriedades mecânicas (BOUVIER; BONNEVILLE; GOULLIEUX, 1997), de coloração (NASCIMENTO et al., 2012), de hidratação (atividade de água ( $A_w$ ), do índice de absorção em água (IAA) e de solubilidade em água (ISA)) (ANDERSON et al., 1969), viscoamilográficas (CARVALHO et al., 2010b) e digestibilidade *in vitro* (amido total, ARD, ALD e AR) (ENGLYST; KINGMAN; CUMMINGS, 1992; MEGAZYME, 2011b). Após análise estatística os resultados foram comparados com extrusados de demais matérias-primas amiláceas.

#### 3.6.1 Densidade aparente e propriedades de expansão

A densidade aparente ( $\rho$ ) do extrusado ( $em\ kg.m^{-3}$ ) foi determinada através da massa (obtida por gravimetria) e das medições do volume considerando o comprimento e diâmetro obtidos com paquímetro manual, nos extremos e ao centro de um total de vinte peças cilíndricas de cada tratamento. Utilizou-se a equação (10) para o cálculo da mesma.

$$\rho = \frac{4m}{\pi.D^2.L}.1000 \quad (10)$$

Na qual,  $\rho$  corresponde à densidade aparente;  $m$ , massa média (g);  $D$ , diâmetro médio (cm);  $L$ , comprimento médio de uma peça cilíndrica (cm).



Para a medição dos índices de expansão seccional (IES), longitudinal (IEL) e volumétrico (IEV) dos extrusados de pinhão foram utilizadas vinte peças aleatórias dentro de cada tratamento. O cálculo do IES foi realizado de acordo com a equação (11):

$$IES = \left( \frac{D}{D_0} \right)^2 \quad (11)$$

Na qual,  $D$  é diâmetro médio de uma peça cilíndrica (cm);  $D_0$ , diâmetro médio da matriz (cm).

O índice de expansão longitudinal (IEL) e o índice de expansão volumétrica (IEV) foram determinados com as equações (12) e (13).

$$IEL = \left( \frac{\rho_m}{\rho_e} \right) \left( \frac{1}{IES} \right) \left( \frac{1 - U_m}{1 - U_e} \right) \quad (12)$$

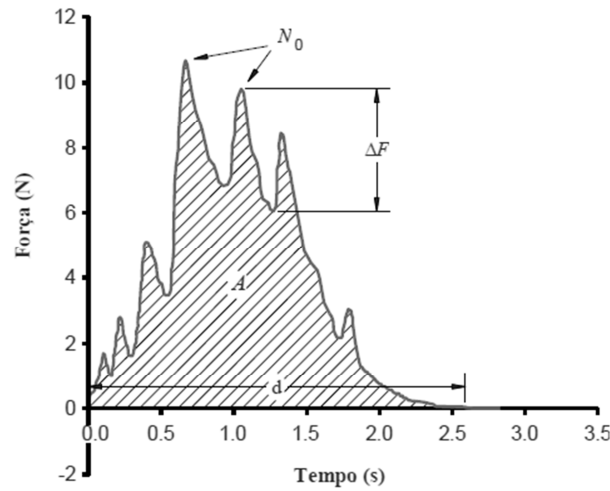
$$IEV = IES \cdot IEL \quad (13)$$

Onde,  $\rho_m$  corresponde à densidade real da massa moída entrando na matriz (considerada como  $1400 \text{ kg.m}^{-3}$ , uma vez previamente determinada pelo método de Arquimedes (MOHSENIN, 1986));  $\rho_e$ , densidade do extrusado, calculado com a equação (10);  $U_m$ , umidade da massa entrando na extrusora;  $U_e$ , umidade do extrusado recentemente resfriado.

### 3.6.2 Propriedades mecânicas

A textura dos extrusados foi determinada usando o teste de punctura com analisador de textura TA-XT Plus (Stable Micro Systems, Surrey, Inglaterra) equipado com uma carga de 30 kg, na qual uma sonda cilíndrica de aço inox de 5 cm de diâmetro foi acoplada. A sonda foi programada para descer a  $5 \text{ mm.s}^{-1}$  até atingir uma força de contato de 0,196 N sob a amostra, a perfuração se iniciou a  $1 \text{ mm.s}^{-1}$  até o 50% do diâmetro do extrusado ( $D/2$ ). Na sequência a sonda ascendeu a  $10 \text{ mm.s}^{-1}$  até uma altura de 20 mm. Um total de 20 perfurações foram realizadas para cada um dos tratamentos. Os picos de forças de compressão em N, e o tempo correspondente em min (FIGURA 16) foram registrados pelo *software* Exponent versão 4.0.13.0 (Stable Micro Systems, Surrey, Inglaterra).

FIGURA 16 - CURVA DE FORÇAS DE COMPRESSÃO DE UM EXTRUSADO.



FONTE: SOLÓRZANO (2013).

NOTA:  $N_0$ , número total de picos;  $d$ , distância de compressão do produto (mm);  $\Delta F$ , força de queda aplicada, por pico (N);  $A$ , área sob a curva de forças que provocou a deformação ( $\text{mm}^2$ ).

O critério de textura foi avaliado usando-se as seguintes equações como resultado da interpretação do gráfico: a frequência de rupturas estruturais ( $N_{sr}$ ) em  $\text{mm}^{-1}$  foi calculada com a equação (14); a média da força específica de rupturas estruturais ( $F_{sr}$ ) em N foi calculada com a equação (15); a média das forças de compressão ( $F_c$ ) dada também em N, foi calculada com a equação (16) e o trabalho de crocância ( $W_c$ ) em N.mm foi calculado com a equação (17).

$$N_{sr} = \frac{N_0}{d} \quad (14)$$

Onde,  $N_0$  é número total de picos;  $d$ , a distância de compressão do produto (mm).

$$F_{sr} = \sum \frac{\Delta F}{N_0} \quad (15)$$

Onde,  $\Delta F$  é força de queda aplicada, gerada por cada pico.

$$F_c = \frac{A}{d} \quad (16)$$

Sendo,  $A$  a área sob a curva de forças de compressão que provocou a deformação ( $\text{mm}^2$ ).

$$W_c = \frac{F_c}{N_{sr}} \quad (17)$$

### 3.6.3 Análise de cor

A análise de cor, realizada nas farinhas após a moagem dos extrusados, seguiu a metodologia de Nascimento et al. (2012). A cor foi registrada usando um colorímetro portátil marca HunterLab modelo MiniScan XE Plus (HunterLab, Reston, EUA) e uma escala CIE-L\*a\*b\* (CIE-Lab), na qual L\* indica luminosidade ou brilho, variando do preto (0) ao branco (100), a\* indica cromaticidade sob um eixo de verde (-) a vermelho (+), e b\* indica cromaticidade sob um eixo de azul (-) a amarelo (+). A diferença total de cor  $\Delta E$  foi determinada usando a equação (18).

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2} \quad (18)$$

### 3.6.4 Atividade de água (*water activity* - $A_w$ )

Para a determinação da  $A_w$  dos extrusados, utilizou-se um aparelho Aqualab Decagon Devices, modelo série 3TE (Decagon Devices, Pullman, EUA), à temperatura constante ( $24 \pm 1$  °C), realizando-se as medições em triplicata, onde os teores médios de água livre nas amostras dos diferentes tratamentos foram verificados.

### 3.6.5 Índice de absorção de água (IAA) e de solubilidade em água (ISA)

Os índices de absorção e de solubilidade em água foram determinados segundo a metodologia de Anderson et al. (1969) com modificações. Em tubos de centrífuga, previamente tarados, foram colocados  $1 \pm 0,05$  g de amostra moída, recuperados entre as peneiras de 212 e 106  $\mu\text{m}$  de abertura, e 5 mL de água destilada. Em seguida, misturou-se por 20 s sob agitador vortex e adicionou-se outros 5 mL de água destilada para lavar qualquer partícula aderida às paredes dos tubos. Os mesmos permaneceram em agitação mecânica em *shaker* a 25 °C por 30 min e, em seguida, foram centrifugados a 3500 g, durante 30 min em centrífuga Excelsa II, modelo 206-BL (Fanem, São Paulo, Brasil). O sobrenadante foi cuidadosamente transferido para um prato de evaporação previamente tarado e seco em estufa com circulação de ar a 105 °C durante 4 h para a medição de sólidos solúveis totais. O gel remanescente foi seco superficialmente, com papel

absorvente, e pesado. As análises de IAA e ISA foram conduzidas em triplicata e o cálculo foi realizado usando as equações (19) e (20).

$$IAA\left(\frac{g}{g}\right) = \frac{\text{massa do precipitado (retido no fundo do tubo da centrífuga)}}{\text{massa seca original da amostra}} \quad (19)$$

$$ISA(\%) = \left( \frac{\text{massa do desidratado presente no sobrenadante}}{\text{massa seca original da amostra}} \right) \cdot 100 \quad (20)$$

### 3.6.6 Amido total nos extrusados

Para a realização desta análise, utilizou-se o kit de ensaio *Total Starch* da Megazyme (*K-TSTA*) e seguiu-se as instruções do fabricante para determinação de amido em amostras que possam conter glicose e/ou maltodextrinas (MEGAZYME, 2011b).

Para as amostras de extrusados, aproximadamente 100 mg foram misturados a 5 mL de etanol aquoso (80% v/v) em tubos de centrifuga (tipo Falcon de 50 mL), e estes foram incubados a 80-85 °C durante 5 min para a solubilização de carboidratos de baixa massa molar que pudessem estar presentes. Os tubos foram agitados em um agitador de tubos vortex e outros 5 mL de etanol aquoso (80% v/v) foram adicionados. Os tubos foram centrifugados em uma centrífuga Sorvall, modelo RC-5B *plus* (Sorvall, Newtown, EUA) a 1500 g durante 10 min e o sobrenadante foi descartado. Novamente a amostra foi ressuspensa em 5 mL de etanol aquoso (80% v/v), agitada, centrifugada e cuidadosamente o sobrenadante foi descartado. A determinação do amido total seguiu o procedimento descrito no item 3.4.8.1.

### 3.6.7 Digestibilidade *in vitro* dos extrusados

A análise de amido resistente seguiu a metodologia de Englyst (ENGLYST; KINGMAN; CUMMINGS, 1992; Al et al., 2013). As amostras foram pesadas baseando-se em 500 mg do conteúdo de amido presente (b.s.). Alíquotas de 50 mg de goma guar e 20 mL de solução tampão acetato de sódio 0,1 M (pH 5,2) foram adicionadas às mesmas.

Cinco esferas de vidro e 5 mL de solução enzimática (preparada conforme descrita no item 3.4.8.2) foram adicionados em cada tubo. Os mesmos foram agitados e submersos em um banho a 37 °C no sentido horizontal alinhado à direção do movimento com agitação de 160 bpm. Um branco contendo 50 mg de goma guar e 20 mL de solução tampão acetato de sódio 0,1 M (pH 5,2) foi feito.

As coletas das amostras bem como as leituras e determinação de amido resistente foram feitas conforme procedimento citado no item 3.4.8.2.

### 3.6.8 Propriedades viscoamilográficas

Para a avaliação das propriedades viscoamilográficas das pastas dos extrusados de pinhão as amostras moídas foram peneiradas sendo que, apenas as frações entre 106 e 212 µm foram utilizadas para maior homogeneidade da amostra.

A viscosidade aparente foi determinada em visco-analisador modelo RVA-4 (Newport Scientific, Warriewood, Austrália), conforme metodologia de Carvalho et al. (2010b) com pequenas modificações. Alíquota de 3 g de farinha extrusada com umidade corrigida para 14% (m/m em base úmida) foi adicionada de água destilada até massa final de 28 g. O regime de tempo/temperatura utilizado foi: 25 °C por 2 min, seguido de aquecimento até 95 °C a uma taxa de 11,6 °C.min<sup>-1</sup>. Houve manutenção da pasta a 95 °C por 3 min e resfriamento de 95 a 25 °C a uma taxa de 11,6 °C.min<sup>-1</sup>. Durante todo o experimento o RVA manteve as suspensões sob agitação a 160 rpm. A viscosidade foi expressa em cP (centipoise). Da mesma forma que na análise do amido, foram detectados: a temperatura de empastamento; o pico de viscosidade; a quebra de viscosidade – *breakdown*; a tendência à retrogradação – *setback*; e a viscosidade final.

### 3.6.9 Análise estatística - extrusados de pinhão

Os resultados obtidos foram tabulados empregando-se o *software* STATISTICA 10.0 (StatSoft, Tulsa, EUA). Para todos os parâmetros, a normalidade da análise de resíduos foi testada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. A significância estatística dos fatores foi examinada por ANOVA para cada parâmetro. Os termos que foram significativos pela ANOVA ( $p < 0,05$ ) foram identificados para geração do modelo. A validação do modelo ocorreu quando a variância da regressão ( $F_{\text{calculado}}$ )

foi maior do que o valor  $F_{\text{tabelado}}$ , e quando a variância dos resíduos ( $F_{\text{calculado}}$ ) foi menor do que o valor de  $F_{\text{tabelado}}$ , no nível de confiança de 95% (RAMOS et al., 2015). A qualidade dos ajustes foi avaliada por P-valor<sub>(lack-of-fit)</sub>, coeficiente de regressão ( $R^2$ ) e seu  $R^2$  ajustado. Para os modelos válidos as superfícies de respostas foram construídas.

### 3.7 AROMATIZAÇÃO DOS EXTRUSADOS

Os extrusados destinados à análise sensorial foram cortados com aproximadamente 3,0 cm de comprimento e denominados de *snacks*. Após análise dos mesmos, com relação aos resultados instrumentais, uma seleção prévia foi realizada para diminuir o número de amostras a serem apresentadas aos consumidores. Para duas das etapas de sensorial realizadas, os *snacks* foram aromatizados de duas formas diferentes: aromatização dos *snacks* salgados – método de aspersão e; aromatização dos *snacks* doces – método de drageamento.

#### 3.7.1 Aromatização dos *snacks* salgados

A formulação foi seguida de acordo com o protocolo das indústrias de extrusados expandidos, baseadas na legislação para *snacks* (BRASIL, 2008b), além de testes preliminares. A mesma foi estabelecida da seguinte forma: 78,09% óleo de girassol, utilizado como veículo; 13,15% de aroma; 5,48% de cloreto de sódio e 3,29% de glutamato monossódico, utilizado como intensificador de aroma. Um volume de 15 mL desta solução foi homogeneizado e espalhado por aspersão sobre aproximadamente 60 g de *snacks* pré-aquecidos (50 °C – 2 h).

Para os *snacks* salgados sem aroma, foram utilizados apenas óleo de girassol (77,03%) e cloreto de sódio (22,97%) na formulação, realizando-se o processo de aspersão da mesma forma que os demais.

#### 3.7.2 Aromatização dos *snacks* doces

A formulação foi dada de acordo com indicação dos fornecedores de aromas, juntamente com testes preliminares, sendo estabelecida como: 74,52% de açúcar; 24,74% de água, utilizada como veículo e; 0,75% de aroma. A quantidade

de 33,55 g desta solução de xarope de açúcar saturado e aromatizado foi aquecida e cerca de 60 g de *snacks* foram adicionados a fim de serem drageados. As aplicações sucessivas de camadas desta solução com engrossamento e secagem controlados foram realizadas até que os *snacks* apresentassem cobertura cristalina.

Para o *snacks* de chocolate, foi utilizada a seguinte formulação: 72,89% de açúcar; 24,20% de água, e; 2,91% de aroma de chocolate. E para o *snacks* doce, sem aroma, foi utilizado apenas açúcar (75,26%) e água (24,74%) na formulação.

### 3.8 ANÁLISE SENSORIAL

Seis tipos de tratamentos dos extrusados de pinhão foram submetidos à avaliação sensorial. O teste utilizado foi o afetivo de aceitação e uma pesquisa de compra, previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Saúde/UFPR (CEP/SD-PB n. 523955), em 07/02/2014.

A análise sensorial dos produtos extrusados (*snacks*) à base de pinhão foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial, localizado na Usina Piloto B, do *Campus* Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná.

Um questionário semi-estruturado sugerido por Ferreira et al. (2000), com algumas modificações, foi aplicado para obtenção de dados dos participantes incluindo: idade, sexo, nível de instrução, se consome pinhão, se consome *snacks*, estado de saúde, alergia alimentar e diabetes.

Os testes foram conduzidos em laboratório, temperatura ambiente, próxima de 20 °C. Os *snacks*, com aproximadamente 3,0 cm de comprimento, foram apresentados em copinhos de café descartável codificados com três dígitos aleatórios e dispostos em ordem balanceada (MACFIE et al., 1989) em bandeja branca, acompanhados de copo de água, guardanapo de papel e ficha de avaliação.

Três análises sensoriais em momentos distintos, incluindo os testes de aceitação e pesquisa de compra foram executadas neste estudo:

- amostras de *snacks* naturais, ou seja, sem adição de aroma;
- amostras de *snacks* aromatizados com sabores salgados;
- amostras de *snacks* aromatizados com sabores doces.

Para cada análise, foram recrutados pelo menos 100 consumidores não treinados dentre os membros da população de consumidores de pinhão e que possuíam disponibilidade e interesse em participar. Todos os consumidores

receberam um termo de consentimento livre e esclarecido - TCLE (ANEXO 1) contendo informações referentes à pesquisa e, ao concordarem, foram solicitados a preencher o nome completo e assinar. A todos foram aplicados o questionário semi-estruturado e a ficha de avaliação do teste de aceitação e pesquisa de compra (APÊNDICE 1).

### 3.8.1 Teste de aceitação

Os produtos foram avaliados quanto à aceitação da cor, aroma, sabor, textura e aceitação global. Foi utilizada uma escala hedônica estruturada facial e numérica de nove pontos, variando de “gostei muitíssimo” (9) a “desgostei muitíssimo” (1), conforme NBR 14.141 (ABNT, 1998; MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1999), e ainda, as perguntas se foi detectado o sabor de pinhão, e se sim, em qual (is) amostra (s), foram feitas.

Durante o teste, a atitude do consumidor numa situação hipotética de compra do produto foi avaliada, conforme NBR 14.141 (ABNT, 1998) e questionou-se qual (is) amostra (s) ele compraria.

### 3.8.2 Análise estatística - análise sensorial

Os dados coletados da avaliação sensorial do produto foram interpretados pela ANOVA e quando os mesmos apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre as médias, foram comparados pelo pós-teste de Tukey ao nível de 5% de significância ( $p \leq 0,05$ ) (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1999). A técnica multivariada foi realizada utilizando-se o programa estatístico XLSTAT Sensory (2014).

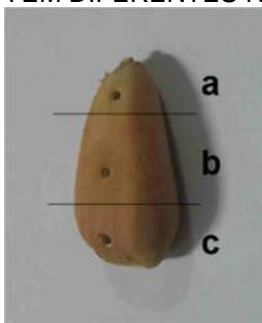


## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DO PINHÃO E DA MATÉRIA-PRIMA PARA EXTRUSÃO

O resultado da análise instrumental da textura do pinhão, correspondente à dureza da amêndoa apresentou média de  $15,11 \pm 2,61$  N na porção denominada “a” (porção mais estreita da amêndoa), de  $20,32 \pm 3,36$  N na porção “b” (central) e de  $20,75 \pm 3,75$  N na porção “c” (porção mais larga da amêndoa), conforme FIGURA 17. Este resultado pode ser correlacionado à consistência dos componentes apresentados (endosperma e gérmen) nas diferentes porções dos pinhões, no caso, ao se penetrar na mesma distância em diferentes partes da amêndoa, pelo fato da porção de endosperma (composta em maior parte por amido) ser maior em “c” do que em “a”, uma vez que a probe encontra parte do gérmen que é perfurado mais facilmente devido à sua composição ser mais rica em lipídios. Além disso, os resultados de textura foram bastante semelhantes aos encontrados por Costa (2014), que variaram de 19,25 a 18,18 N, em pinhões recém-colhidos e antes de serem submetidos à estocagem.

FIGURA 17 - MEDIÇÃO DA DUREZA EM DIFERENTES REGIÕES DA AMÊNDOA DE PINHÃO



#### 4.1.1 Composição centesimal

Na TABELA 5 estão listados os valores da composição centesimal (b.s.) do pinhão descascado *in natura* e da farinha de pinhão.

TABELA 5 - COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA AMÊNDOA DE PINHÕES *IN NATURA* E DA FARINHA DE PINHÃO

Composição centesimal (%) (b.s.)	Pinhão <i>in natura</i>	Farinha de pinhão/pinhão desidratado
Umidade	43,47 ± 0,20	13,41 ± 0,58
Cinzas	2,41 ± 0,05	2,60 ± 0,04
Proteínas	4,89 ± 0,19	5,97 ± 0,15
Lipídios	1,23 ± 0,03	1,80 ± 0,03
Fibra alimentar	9,18 ± 0,87	6,01 ± 0,82
Carboidratos	82,29 ± 0,27	83,62 ± 0,32

O teor de umidade encontrado no pinhão foi de 43,47%, bem próximo ao determinado por Cladera-Oliveira et al. (2008) de 46,7%, Wosiacki e Cereda (1985) de 38,10% e semelhante ao referenciado pelos demais autores (CORDENUNSI et al., 2004; CAPELLA; PENTEADO; BALBI, 2009; GAMA et al., 2010) que encontraram valores bem próximos a 50,00%.

O teor de cinzas encontrado no pinhão foi de 2,41%, proteínas 4,89%, e lipídios 1,23%, os quais foram menores que os reportados no trabalho dos autores citados acima. No entanto, condizentes com um ou outro que tiveram valores mais próximos, como o teor de cinzas encontrado por Capella, Penteado e Balbi (2009) (2,85%), proteínas por Cladera-Oliveira et al. (2008) (5,57%) e de lipídios por Wosiacki e Cereda (1985), Cordenunsi et al. (2004) e Cladera-Oliveira et al. (2008), cujos valores foram respectivamente 2,91%, 2,50% e 2,33%, correspondentes a pinhões não-germinados, uma vez que a germinação poderia provocar elevação no teor de lipídios.

Segundo Capella, Penteado e Balbi (2009), ainda que o amido seja a principal fonte de reserva das sementes de *Araucaria angustifolia*, as proteínas e lipídios também compõem uma importante fonte de reserva. De acordo com Fernandez (2003), o estágio de desenvolvimento das sementes e condições edafoclimáticas (temperatura, irrigação e característica genética da espécie) faz com que tais compostos variem, sendo que o acúmulo dos nutrientes ocorre na desidratação da semente nas etapas finais de maturação entre os meses de abril a maio, quando os valores de proteínas podem variar de 8 até 15%. Ainda segundo o mesmo autor, o acúmulo de proteínas nos pinhões decai abruptamente na fase final de maturação, devido também ao acúmulo de amido no megagametófito – parte que envolve o embrião e é envolvido pelo óvulo – da semente. A possibilidade de ocorrer estas variações dos valores de proteínas, lipídios e carboidratos no processo de

maturação são comuns, por isso da diferença dos valores obtidos no trabalho, comparados com os da literatura.

A presença de 9,18% de fibra alimentar total é correspondente ao amido resistente (AR), lignina, polissacarídeos e oligossacarídeos (GIUNTINI; MENEZES; LAJOLO, 2003). O teor de fibra alimentar total no pinhão foi semelhante ao apresentado nos estudos de Cordenunsi et al. (2004) (9,90% - b.s.), e inferior ao encontrado pelos demais autores.

Os pinhões apresentaram alto teor de carboidratos (82,29%) se comparados aos valores encontrados por Cordenunsi et al. (2004), Capella, Penteado e Balbi (2009) e Cladera-Olivera et al. (2008), cujos valores foram, respectivamente, 75,80%, 67,84% e 66,60%.

Os pinhões desidratados (farinha) apresentaram uma composição química semelhante à determinada nos pinhões *in natura*, conforme observado na TABELA 5. Com exceção da umidade que foi controlada, o processo de secagem não influenciou significativamente na composição dos demais constituintes dos pinhões. A quantidade de carboidratos tornou-se atrativa para a utilização deste material no processo de cozimento por extrusão em comparação aos cereais comuns utilizados nesse processo, tais como o milho e arroz que apresentam 77,9% (NASCIMENTO et al., 2012) e 80,16% (CARVALHO et al., 2012), respectivamente.

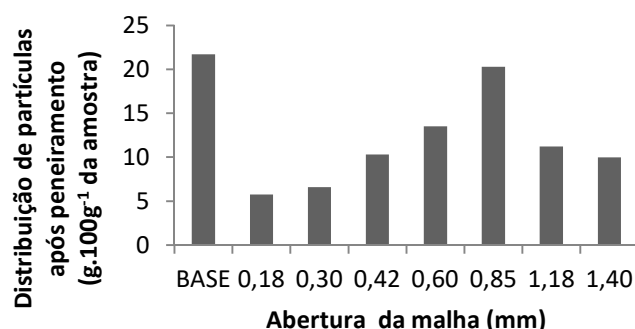
O amido total presente na matéria-prima para extrusão foi de  $76,89 \pm 1,06\%$  (b.s.). Desse total, para a farinha cru,  $25,68 \pm 3,41\%$  corresponderam ao amido rapidamente digerido (ARD),  $12,79 \pm 1,77\%$  ao amido lentamente digerido (ALD) e  $61,53 \pm 1,64\%$  ao amido resistente (AR); enquanto que para farinha cozida,  $91,82 \pm 0,32\%$  corresponderam ao ARD,  $1,49 \pm 0,28\%$  ao ALD e  $6,69 \pm 0,04\%$  ao AR.

#### 4.1.2 Distribuição granulométrica

De acordo com Carvalho e Ascheri (1999), a distribuição do tamanho das partículas depende do processo de moagem e afeta a expansão e propriedades mecânicas dos extrusados.

Com a intenção de transformar a matéria-prima em um material cuja granulometria se torne ideal para o processo de extrusão, a distribuição granulométrica do pinhão desidratado e moído encontra-se na FIGURA 18.

FIGURA 18 - DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DA PARTÍCULA DA FARINHA DE PINHÃO



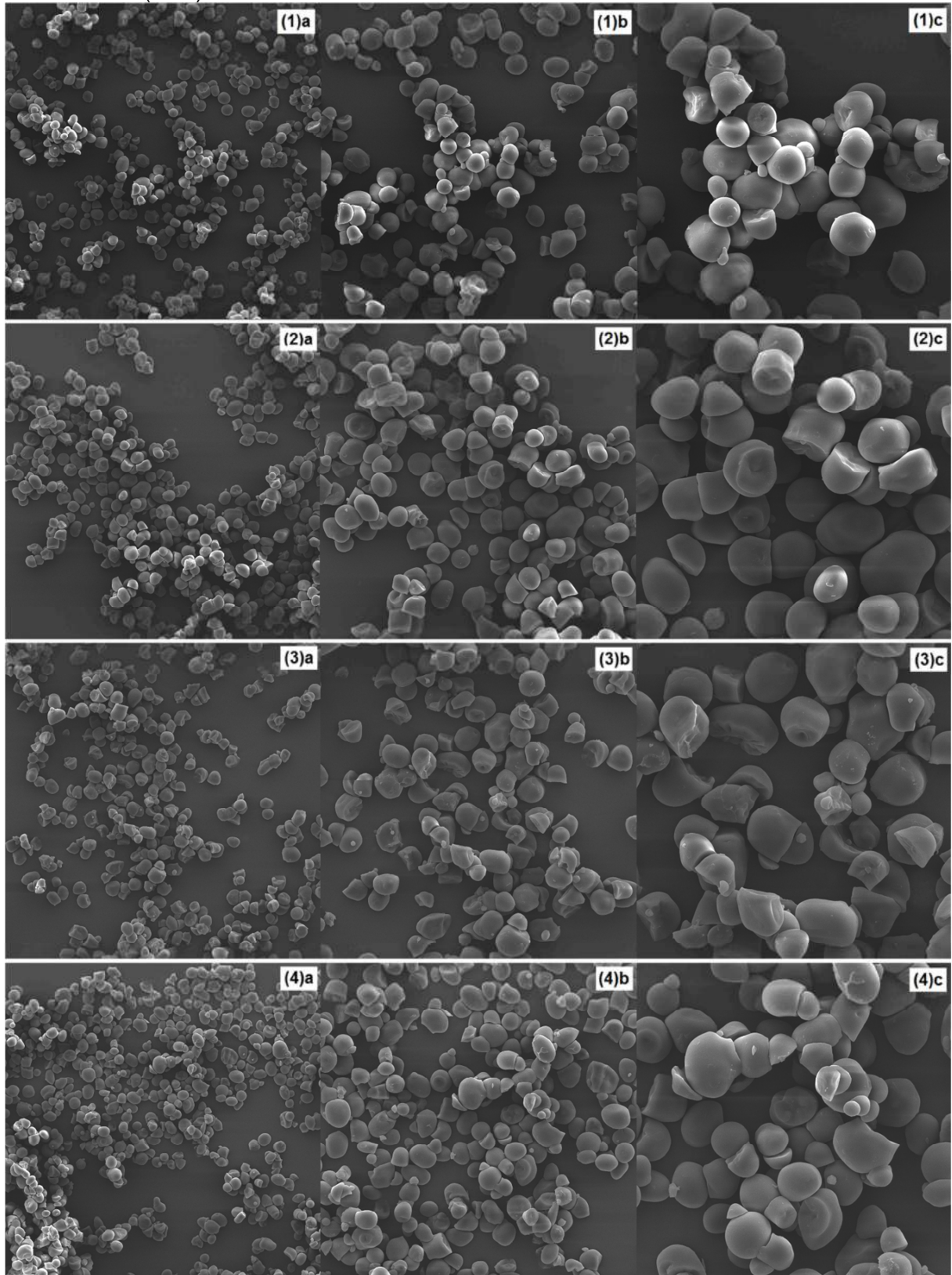
A granulometria do material ficou entre 0,18 e 1,40 mm, sendo que as maiores quantidades de partículas em gramas por 100 gramas de amostra foram encontradas em diâmetros menores que 180  $\mu\text{m}$ , correspondente à intensa moagem e presença de amido e entre 0,60-1,18 mm, correspondente à granulometria desejada para a produção de extrusados expandidos (CARVALHO et al., 2010b). As partículas pequenas são mais rapidamente fundidas e a massa resultante, de viscosidade baixa, não é transportada apropriadamente.

## 4.2 AMIDO DE PINHÃO

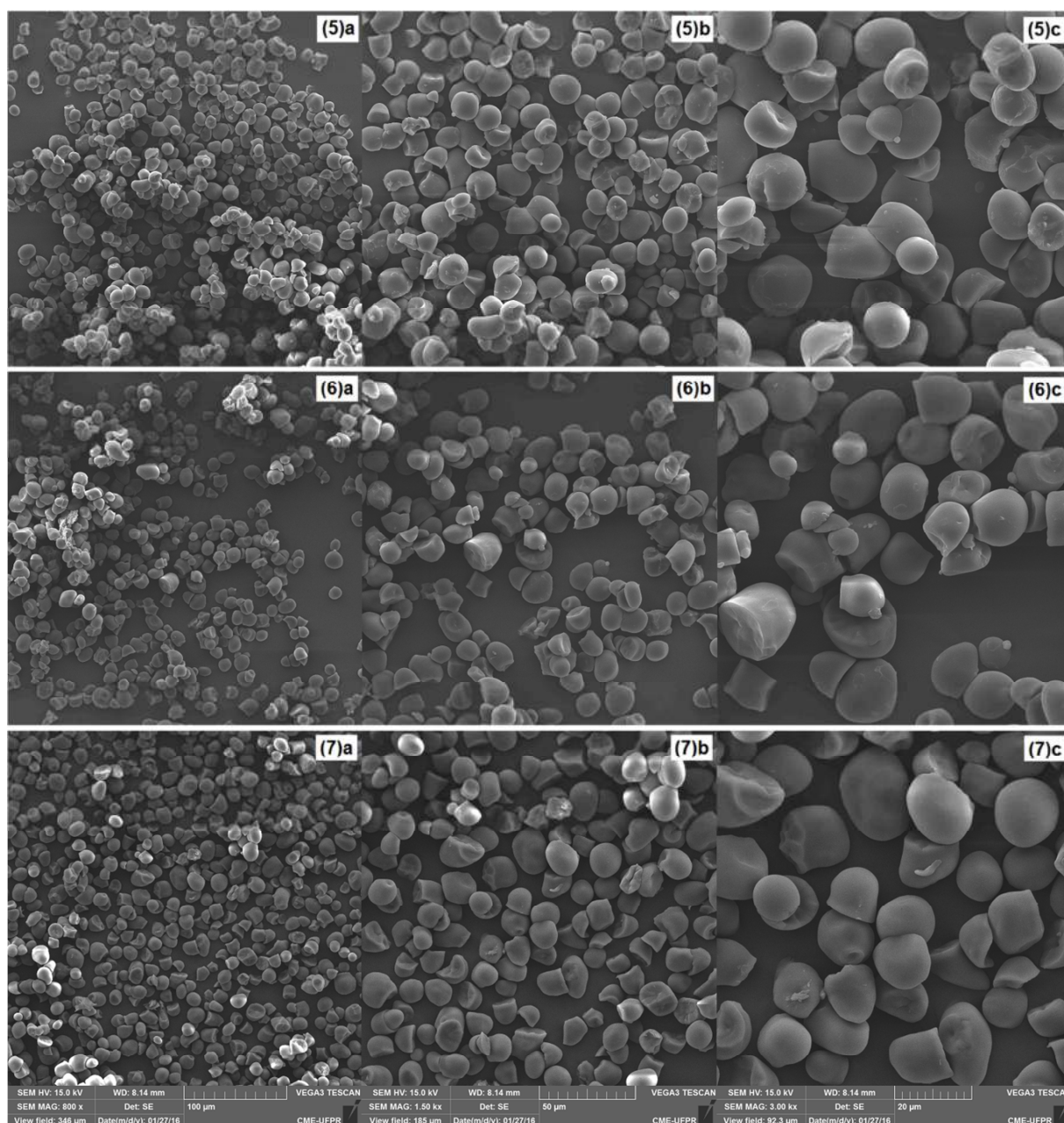
### 4.2.1 Característica morfológica dos amidos de pinhão

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) amplifica a precisão de determinação do tamanho dos grânulos devido ao curto comprimento de onda do feixe de elétrons, e possui a capacidade de fornecer uma perspectiva mais detalhada sobre as características da superfície dos grânulos. As micrografias dos grânulos de amido de pinhão encontram-se na FIGURA 19.

FIGURA 19 - MICROGRAFIA DOS GRÂNULOS DE AMIDO DE PINHÃO (1-3 PRECOCES E 4-7 CICLO MÉDIO) OBTIDOS POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)







LEGENDA: a) AUMENTO DE 800X; b) AUMENTO DE 1500X; c) AUMENTO DE 3000X.

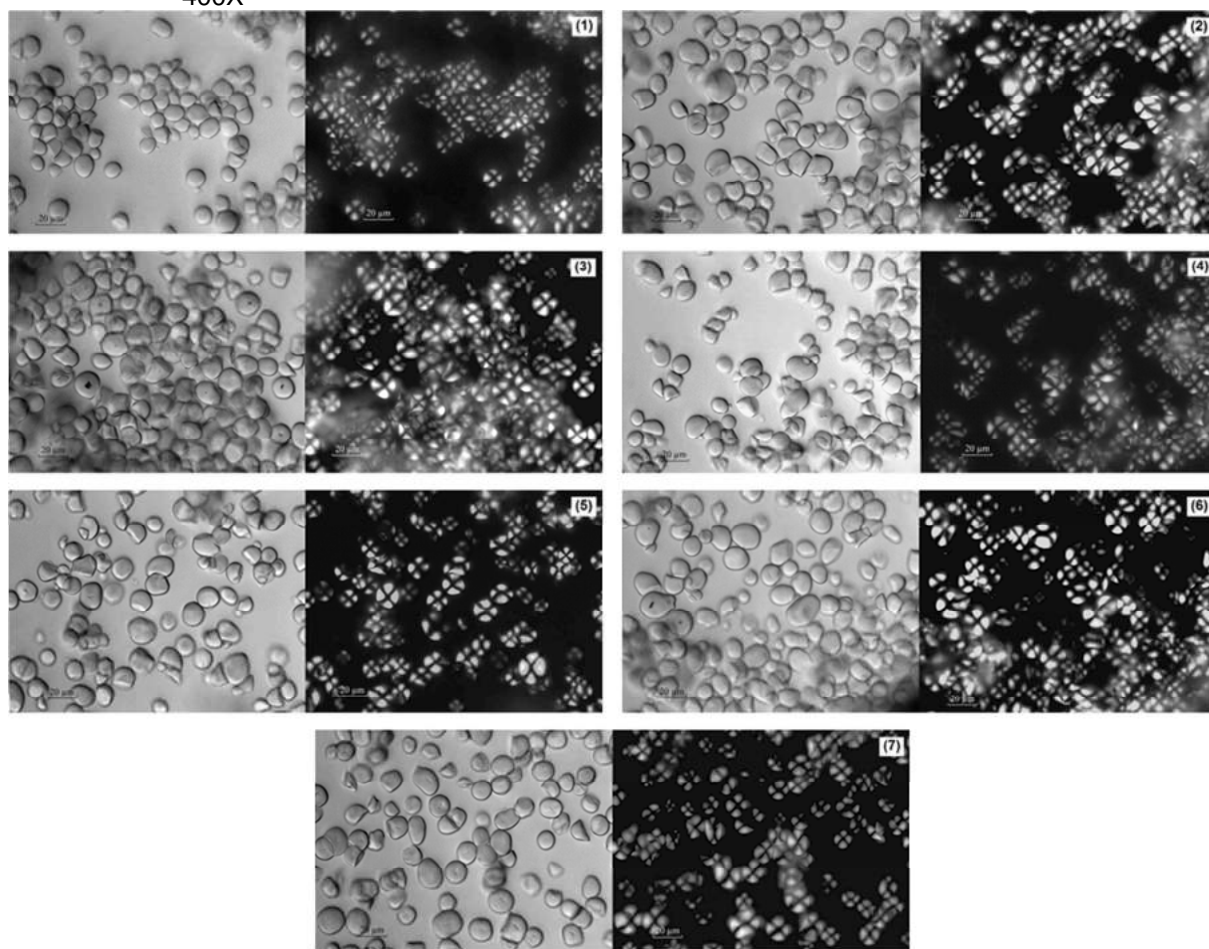
O tamanho dos grânulos de amido de pinhão variam entre 7 e 20  $\mu\text{m}$  (diâmetro médio), valores estes também relatados por Conforti e Lupano (2007) e Muccillo (2009). Comparados aos grânulos de amido de outra fonte mais comum, como a mandioca, por exemplo, os grânulos de amido de pinhão apresentam diâmetros menores, porém são morfologicamente semelhantes (CEREDA, 2001).

Themeier et al. (2005) verificaram que para melhor ser observada por microscopia e também para aumentar a fração de grânulos de amido observáveis, a amostra deve ser moída, o que pode desencadear danos mecânicos nos grânulos que influenciam os parâmetros de comparação, tais como tamanho, forma e

estruturas. No entanto, ainda que verificados esses danos nas amostras analisadas neste trabalho, o tamanho e forma dos grânulos puderam ser avaliados em grânulos inteiros através desta técnica.

Os resultados da microscopia óptica dos grânulos dos sete amidos de pinhão podem ser observados na FIGURA 20.

FIGURA 20 - MICROGRAFIAS DE AMIDOS DE PINHÃO (1-3 PRECOCES E 4-7 CICLO MÉDIO) SEM (À ESQUERDA) E COM (À DIREITA) LUZ POLARIZADA COM AMPLIAÇÃO DE 400X



Todas as micrografias (FIGURAS 19 e 20) evidenciaram os grânulos de amido de pinhão com pouca variação de tamanho, formas túrgidas e homogêneas, com característica oval, elipsóide hemisférica ou truncada e superfície sem irregularidades. Características que também foram observadas nos estudos de Bello-Pérez et al. (2006), Conforti e Lupano (2007), Gama et al. (2010) e Daudt et al. (2014), com amido de pinhão.

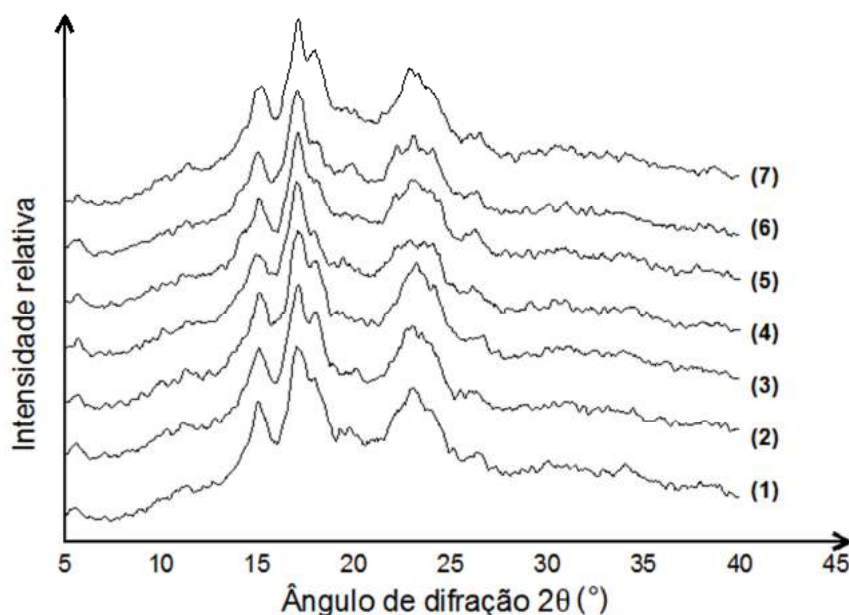
O grânulo de amido consiste de camadas concêntricas que contém micelas cristalinas agrupadas em volta de um centro ou “*hilum*” (RADOSAVLJEVIC; JANE;

JOHNSON, 1998; HOOVER, 2001). Na FIGURA 20 pode-se observar claramente o ponto ao centro de cada grânulo evidenciado pelo modelo típico de “Cruz de Malta” quando aplicada a luz polarizada, que corresponde à refração dos grânulos dada pelas suas regiões cristalinas. Segundo Eliasson (2004) e Lajolo e Menezes (2006), essa orientação radial das macromoléculas e propriedade de birrefringência, é devida ao alto grau de orientação molecular interna, e não se refere a qualquer forma cristalina particular.

A partir da análise de difração de raios X, que depende em parte, dos comprimentos das cadeias de amilopectina; da densidade das ramificações na região cristalina (compactação dos grânulos); e da presença de água, é possível estabelecer a dinâmica molecular dos amidos e definir a forma da cristalinidade classificando-os como: A (amidos de cereais), B (maior parte de amidos de tubérculos e raízes) ou C (mistura de A e B, maioria das leguminosas). O conhecimento deste parâmetro pode permitir melhor entendimento de propriedades como solubilidade, cozimento, entre outras (ZOBEL, 1964; WU; SARKO, 1978; LAVAL; ADEBOWALE, 2005; SAJILATA; SINGHAL; KULKARNI, 2006; CHUNG; LIU, 2012; LIMA et al. 2012).

Os padrões cristalinos dos sete amidos de pinhão, tal como determinado pela difração de raios X são mostrados na FIGURA 21.

FIGURA 21 - DIFRATOGRAMAS DE RAIOS X DE AMOSTRAS DE AMIDO DE PINHÃO (1-3 PRECOCES E 4-7 CICLO MÉDIO)





As cristalinidades relativas das amostras (1-3 precoces e 4-7 ciclo médio) foram calculadas com base nos difratogramas de raios X e os valores foram de:  $30,46 \pm 0,46\%$ ;  $30,70 \pm 0,06\%$ ;  $28,74 \pm 0,49\%$ ;  $27,29 \pm 0,04\%$ ;  $26,70 \pm 0,10\%$ ;  $26,37 \pm 0,37\%$  e  $28,00 \pm 0,02\%$ , respectivamente. Esses valores foram semelhantes às cristalinidades das amostras de amido de batata (28%) (ZOBEL, 1988) e mandioca (27%) (COOKE; GIDLEY, 1992).

Os perfis entre os amidos de pinhão tiveram diferentes comportamentos devido às diferentes intensidades dos picos de difração mostrados em  $5,60^\circ$ ;  $15,05^\circ$ ;  $17,10^\circ$ ;  $19,35^\circ$ ;  $23,05^\circ$  e  $26,10^\circ$  a um ângulo de  $2\theta$ . No entanto, as regiões dos picos encontrados foram semelhantes às reportadas nos trabalhos de Pinto et al. (2012), Costa et al. (2013) e Klein et al. (2013), e os perfis de difração foram coerentes aos perfis de amidos do tipo A, contudo, também apresentaram pico a  $5,5^\circ$  a  $2\theta$  que é típico de amidos do tipo B. Dessa forma, estes amidos de pinhão podem ser classificados como padrão de tipo C<sub>A</sub>.

#### 4.2.2 Caracterização estrutural dos amidos de pinhão

##### 4.2.2.1 Conteúdo de amilose aparente

A capacidade que a estrutura helicoidal da amilose tem em formar complexos de inclusão com iodo permite determinar os teores de amilose aparente dos amidos quando submetidos a uma titulação potenciométrica (JANE et al., 1999; GÉRARD et al., 2001). Quanto maior a afinidade por iodo, maior será o teor de amilose do amido. Os teores de amilose aparente dos amidos de pinhão estão apresentados na TABELA 6.

TABELA 6 - CONTEÚDO DE AMILOSE APARENTE DAS AMOSTRAS DE AMIDOS DE PINHÃO (1-3 PRECOCES E 4-7 CICLO MÉDIO)

Amostra	Conteúdo de amilose aparente (%)
(1)	$22,2 \pm 0,5^{ab}$
(2)	$24,1 \pm 0,8^a$
(3)	$23,4 \pm 1,0^a$
(4)	$20,2 \pm 0,0^b$
(5)	$22,7 \pm 1,3^{ab}$
(6)	$19,7 \pm 0,7^b$
(7)	$21,9 \pm 0,2^{ab}$

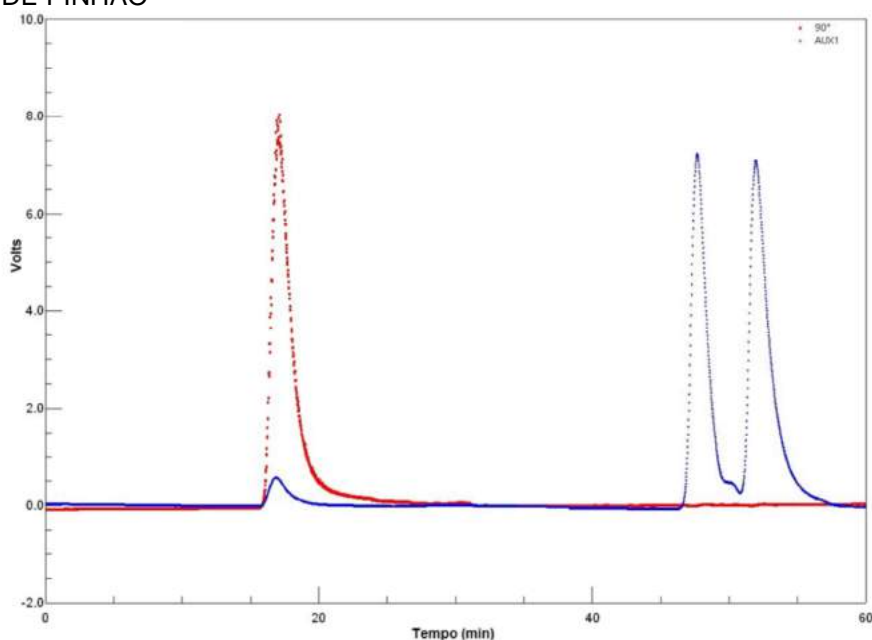
Médias  $\pm$  desvio padrão (dp), seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey.

Neste trabalho, os teores de amilose aparente dos amidos de pinhão variaram de 19,7 a 24,1%, havendo diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre algumas amostras (TABELA 6). No entanto, a média de 22,0% foi próxima aos teores de amilose relatados por Wosiacki e Cereda (1985) (22,3%), Stahl et al. (2007) (23,54%), e Conforti e Lupano (2007) (22,4%), e foi menor do que os valores encontrados por Bello-Pérez et al. (2006) (25,0%), Bicudo et al. (2009) (25,6%) e Costa et al. (2013) (25,9%). Se comparado às demais fontes de amido, o amido de pinhão contém menor teor de amilose que o amido de milho normal: 29,4% (JANE et al., 1999), 27,5% (SINGH et al., 2003); 27,9% (ROCHA, 2008); também menos amilose que o amido de batata 37,8% e 30,4%, determinados por McPherson e Jane (1999) e Rocha (2008), respectivamente; e semelhante conteúdo de amilose ao amido de mandioca, 23,2% (ROCHA, 2008) e 21,3% (DUAN et al., 2012).

#### 4.2.2.2 Massa molar e raio de giro

Através da técnica de cromatografia de exclusão por tamanho de alta performance (*HPSEC-MALLS-RI*) foi possível analisar os perfis de distribuição de massa molar da amilopectina dos amidos de pinhão. O cromatograma de uma das amostras é apresentado na FIGURA 22.

FIGURA 22 - PERFIL DE ELUIÇÃO POR *HPSEC-MALLS-RI* DE UMA DAS AMOSTRAS DE AMIDO DE PINHÃO



A FIGURA 22 apresenta o perfil de eluição da amostra onde o traço azul representa o detector de índice de refração ( $R_I$ ) e o traço vermelho o detector de espalhamento de luz no ângulo de  $90^\circ$ . O primeiro pico no cromatograma correspondeu à porção de amilopectina (que é o componente de maior massa molar) enquanto que os demais (azuis) corresponderam ao solvente (DMSO).

Foram possíveis as determinações da massa molar média ( $M_w$ ) e do raio de giro ( $R_z$ ) da amilopectina uma vez que as amostras foram dispersas em dimetil sulfóxido (DMSO) para a solubilização do amido sem degradação estrutural, ou seja, apenas as ligações de hidrogênio foram rompidas, e tais valores, para os amidos de pinhão estão apresentados na TABELA 7.

TABELA 7 - MASSA MOLAR ( $M_w$ ) E RAO DE GIRO ( $R_z$ ) DOS AMIDOS DE PINHÃO

Amostra de amido de pinhão	$M_w$ ( $10^8$ g.mol $^{-1}$ )	$R_z$ (nm)
(1)	3,1 $\pm$ 0,0 <sup>c</sup>	278 $\pm$ 3 <sup>ab</sup>
(2)	3,0 $\pm$ 0,0 <sup>c</sup>	270 $\pm$ 2 <sup>c</sup>
(3)	3,6 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup>	277 $\pm$ 0 <sup>ab</sup>
(4)	3,1 $\pm$ 0,0 <sup>c</sup>	272 $\pm$ 0 <sup>bc</sup>
(5)	3,5 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup>	280 $\pm$ 1 <sup>a</sup>
(6)	3,4 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	277 $\pm$ 1 <sup>ab</sup>
(7)	3,9 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	283 $\pm$ 2 <sup>a</sup>

Médias  $\pm$  dp seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey.

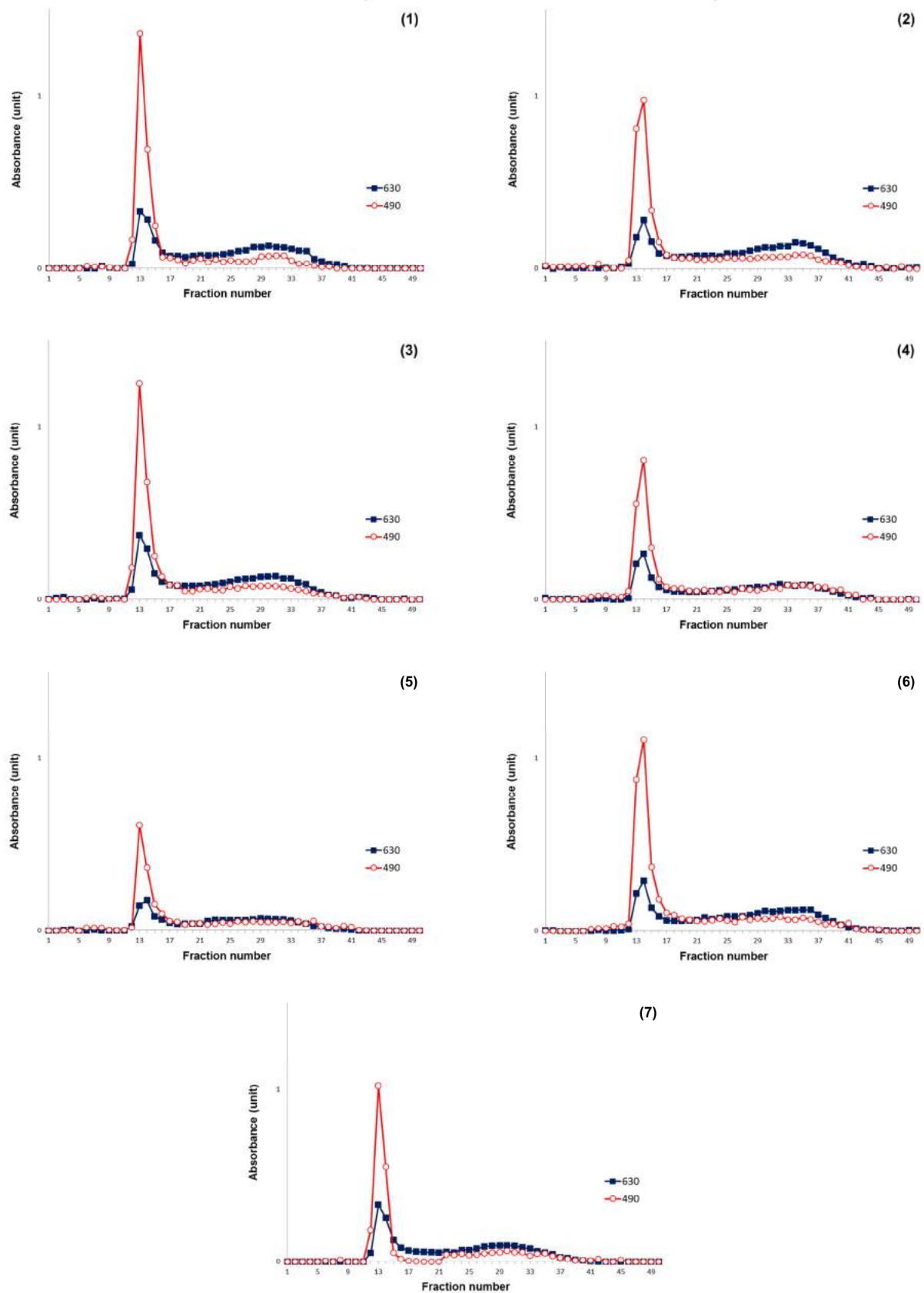
Os resultados se apresentaram em um intervalo de  $3,0$ - $3,9 \times 10^8$  g.mol $^{-1}$  e  $270$ - $283$  nm, respectivamente (TABELA 7) e em ambos algumas amostras tiveram diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

Estes parâmetros estruturais do amido de pinhão não estão disponíveis na literatura, mas podem ser comparados a resultados de um estudo realizado por Yoo e Jane (2002a) sobre massas molares e raios de giro, com amidos de várias diferentes fontes botânicas, cujos amidos de trigo normal, milheto e feijão mungo foram os que mais o amido pinhão se aproximou.

#### 4.2.2.3 Fracionamento por cromatografia de permeação em gel (GPC)

Os perfis de eluição dos amidos pinhão são mostrados na FIGURA 23.

FIGURA 23 - PERFIS DE CROMATOGRAFIA DE PERMEAÇÃO EM GEL DE SEPHAROSE CL-2B DE AMIDOS DE PINHÃO (1-3 PRECOCES E 4-7 CICLO MÉDIO)



LEGENDA: ■ Blue value (630 nm); -○- Total CHO (490 nm)

Esta análise não é quantitativa, no entanto, foi possível realizar uma separação dos componentes formadores do amido. A partir da resposta de *blue value* (BV) à reação das moléculas com iodo e da quantidade de carboidratos totais pelo método de fenol-sulfúrico foi possível identificar as frações de elevada massa molar, de 11 a 17 mostrados no primeiro pico, referente à amilopectina; e frações de baixa massa molar (de 20 e acima), mostrado no segundo pico difuso que correspondeu ao conteúdo de amilose.

#### 4.2.2.4 Distribuição do comprimento de cadeia ramificada de amilopectina dos amidos de pinhão

Os comprimentos de cadeias ramificadas da amilopectina derivatizadas com APTS e analisadas por *FACE* foram classificadas conforme o grau de polimerização (*degree of polymerization* – DP) segundo Hanashiro, Abe e Hizukuri (1996) em quatro grupos: DP 06-12, DP 13-24, 25-36 e DP≥37, e os resultados estão resumidos na TABELA 8.

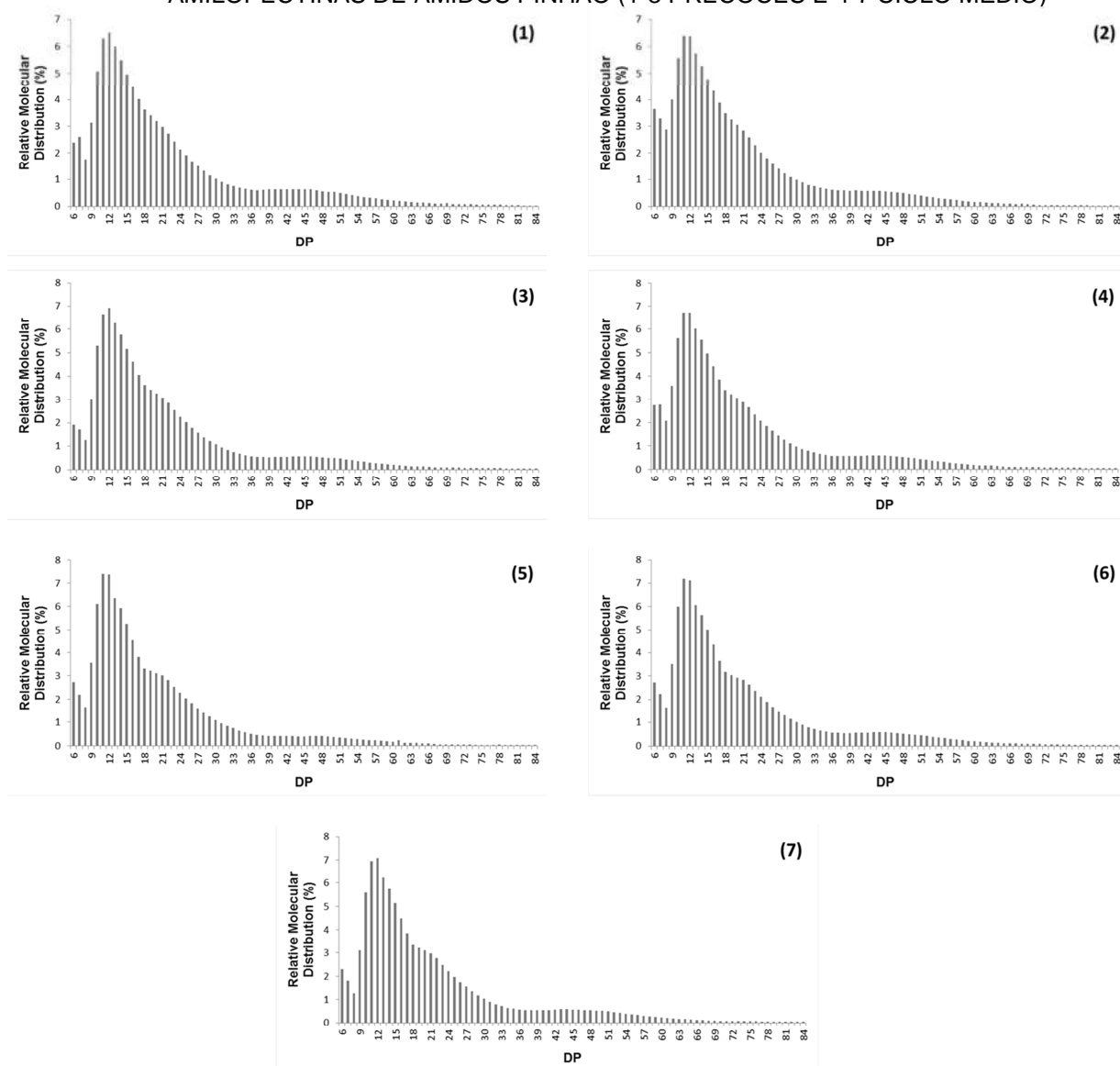
TABELA 8 - DISTRIBUIÇÃO DOS COMPRIMENTOS DE CADEIAS RAMIFICADAS DAS AMILOPECTINAS DE AMIDOS DE PINHÃO

Amostra de amido de pinhão	DP 6-12 (%)	DP 13-24 (%)	DP 25-36 (%)	DP≥37 (%)	Média de comprimento da cadeia (DP)
(1)	28,3±0,8 <sup>c</sup>	45,6±0,3 <sup>b</sup>	12,9±0,1 <sup>bc</sup>	13,2±1,0 <sup>a</sup>	21,0±0,5 <sup>ab</sup>
(2)	32,1±0,2 <sup>a</sup>	43,5±0,1 <sup>d</sup>	12,4±0,0 <sup>d</sup>	12,1±0,3 <sup>a</sup>	20,2±0,1 <sup>bc</sup>
(3)	26,7±0,1 <sup>d</sup>	46,8±0,3 <sup>a</sup>	13,4±0,1 <sup>a</sup>	13,2±0,5 <sup>a</sup>	21,4±0,2 <sup>a</sup>
(4)	30,2±0,0 <sup>b</sup>	44,4±0,0 <sup>c</sup>	12,5±0,0 <sup>d</sup>	12,9±0,0 <sup>a</sup>	20,8±0,0 <sup>ab</sup>
(5)	31,0±0,1 <sup>ab</sup>	46,1±0,0 <sup>ab</sup>	13,4±0,1 <sup>a</sup>	9,5±0,2 <sup>b</sup>	19,7±0,0 <sup>c</sup>
(6)	30,4±0,1 <sup>b</sup>	43,8±0,0 <sup>cd</sup>	12,8±0,0 <sup>cd</sup>	13,0±0,1 <sup>a</sup>	20,9±0,0 <sup>ab</sup>
(7)	28,0±0,2 <sup>c</sup>	45,6±0,0 <sup>b</sup>	13,2±0,1 <sup>ab</sup>	13,3±0,0 <sup>a</sup>	21,3±0,0 <sup>a</sup>

Médias ± dp seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey.

A distribuição do comprimento das cadeias ramificadas das amilopectinas estão mostradas na FIGURA 24.

FIGURA 24 - PERFIS DE DISTRIBUIÇÃO DE COMPRIMENTO DE CADEIAS RAMIFICADAS DE AMILOPECTINAS DE AMIDOS PINHÃO (1-3 PRECOCES E 4-7 CICLO MÉDIO)



As amostras apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) nas distribuições das cadeias ramificadas. Embora em todas tenham sido detectadas maior proporção de cadeias média curtas (43,5-46,8%), seguida pelas cadeias curtas (26,7-32,1%), os perfis de distribuição dos tamanhos, grau de polimerização (DP), diferiram entre as amostras, conforme mostrado na FIGURA 24. Foi possível observar um declínio nos DP's de 6 a 8, um pico a DP 11-12, um decréscimo contínuo nos graus de polimerização das cadeias com a presença de um curto ombro em DP 18 em algumas amostras (3-7), e um segundo pico a DP 40-46. A presença de ombro possui intensidade relativa conforme a fonte de amido. Jane et al. (1999), Genkina et al. (2007) e Rocha et al. (2011) afirmam que, uma vez que as cadeias com  $DP < 10$

têm tendência a não constituírem duplas hélices, elas podem estar situadas dentro da região cristalina, e com isso, indicarem falhas na estrutura do amido.

#### 4.2.3 Propriedades térmicas dos amidos de pinhão

##### 4.2.3.1 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As propriedades térmicas dos amidos de pinhão durante a gelatinização do amido granular e dissociação dos amidos retrogradados estão apresentadas nas TABELAS 9 e 10.

TABELA 9 - PROPRIEDADES TÉRMICAS DOS GRÂNULOS DE AMIDO DE PINHÃO (1-3 PRECOCES E 4-7 CICLO MÉDIO) DURANTE A GELATINIZAÇÃO, DETERMINADAS POR CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

Amostra	T <sub>0</sub> (°C)	T <sub>p</sub> (°C)	T <sub>c</sub> (°C)	ΔH <sub>gel</sub> (J.g <sup>-1</sup> )	(T <sub>c</sub> -T <sub>0</sub> ) (°C)
(1)	59,6±0,2 <sup>a</sup>	64,5±0,7 <sup>a</sup>	70,0±1,0 <sup>ab</sup>	14,5±0,5 <sup>a</sup>	10,4±0,7
(2)	57,5±0,1 <sup>bc</sup>	62,4±0,2 <sup>b</sup>	67,9±0,6 <sup>b</sup>	13,5±0,2 <sup>abc</sup>	10,4±0,7
(3)	58,5±0,2 <sup>ab</sup>	64,3±0,5 <sup>ab</sup>	71,1±0,6 <sup>a</sup>	14,1±0,0 <sup>ab</sup>	12,6±0,5
(4)	55,3±0,1 <sup>d</sup>	60,0±0,1 <sup>c</sup>	64,9±0,2 <sup>c</sup>	13,5±0,5 <sup>abc</sup>	9,6±0,3
(5)	53,3±0,3 <sup>e</sup>	59,7±0,7 <sup>c</sup>	67,5±0,7 <sup>b</sup>	12,5±0,3 <sup>c</sup>	14,2±0,4
(6)	53,1±0,6 <sup>e</sup>	58,3±0,1 <sup>c</sup>	64,7±0,6 <sup>c</sup>	13,3±0,2 <sup>abc</sup>	11,6±0,1
(7)	56,2±0,8 <sup>cd</sup>	62,8±0,6 <sup>ab</sup>	71,0±0,8 <sup>a</sup>	13,2±0,8 <sup>bc</sup>	14,8±0,0

T<sub>0</sub>, temperatura *onset*; T<sub>p</sub>, temperatura de pico; T<sub>c</sub>, temperatura de conclusão; ΔH<sub>gel</sub>, variação de entalpia de gelatinização.

Médias ± dp seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de significância de 5% (p<0,05) pelo Teste de Tukey.

TABELA 10 - TRANSIÇÕES TÉRMICAS DE DISSOCIAÇÃO DOS AMIDOS DE PINHÃO (1-3 PRECOCES E 4-7 CICLO MÉDIO) RETROGRADADOS, DETERMINADAS POR CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

Amostra	T <sub>0</sub> (°C)	T <sub>p</sub> (°C)	T <sub>c</sub> (°C)	ΔH <sub>ret</sub> (J.g <sup>-1</sup> )	(T <sub>c</sub> -T <sub>0</sub> ) (°C)
(1)	38,8±0,2 <sup>a</sup>	49,4±1,3 <sup>a</sup>	61,5±0,2 <sup>a</sup>	6,9±0,1 <sup>a</sup>	22,7±0,4
(2)	40,3±1,1 <sup>a</sup>	51,0±2,2 <sup>a</sup>	63,3±1,8 <sup>a</sup>	5,1±0,6 <sup>bc</sup>	23,0±0,6
(3)	39,7±0,2 <sup>a</sup>	50,8±0,6 <sup>a</sup>	62,0±1,1 <sup>a</sup>	5,7±0,1 <sup>ab</sup>	22,3±1,3
(4)	41,6±1,4 <sup>a</sup>	51,8±1,6 <sup>a</sup>	60,4±1,5 <sup>a</sup>	3,7±0,3 <sup>d</sup>	18,8±0,1
(5)	42,4±0,7 <sup>a</sup>	50,8±0,9 <sup>a</sup>	59,4±1,9 <sup>a</sup>	4,1±0,3 <sup>cd</sup>	17,0±1,1
(6)	38,4±2,0 <sup>a</sup>	49,6±1,3 <sup>a</sup>	60,1±0,7 <sup>a</sup>	4,6±0,4 <sup>bcd</sup>	21,7±1,3
(7)	39,1±1,5 <sup>a</sup>	50,1±0,8 <sup>a</sup>	60,2±0,2 <sup>a</sup>	4,5±0,1 <sup>bcd</sup>	21,1±1,6

T<sub>0</sub>, temperatura *onset*; T<sub>p</sub>, temperatura de pico; T<sub>c</sub>, temperatura de conclusão; ΔH<sub>ret</sub>, variação de entalpia de dissociação de amidos retrogradados.

Médias ± dp seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de significância de 5% (p<0,05) pelo Teste de Tukey.

Durante a gelatinização, as temperaturas *onset*, de pico e conclusão médias entre as amostras – 56,2 °C, 61,7 °C, 68,2 °C, respectivamente, foram menores que as temperaturas reportadas por Conforti e Lupano (2007): 63,6, 68,5, 75,8 °C; Pinto et al. (2012): 60,8, 66,7, 74,2 °C; e Klein et al. (2013): 60,7, 66,7, 72,8 °C; mas

estiveram próximas das reportadas por Costa et al. (2013): 54,5, 59,1, 63,0 °C, sendo todas referentes ao amido de pinhão.

A entalpia de gelatinização do amido é relacionada com diversos fatores como arquitetura molecular da região cristalina dos grânulos de amido, a razão amilose/amilopectina, e o tamanho dos grânulos (KAUR; SINGH; SINGH, 2002; THITIPRAPHUNKUL et al., 2003).

O pico endotérmico registrado nessa análise correspondeu tanto à perda das duplas hélices da amilopectina quanto à perda da cristalinidade dos amidos quando submetidos à gelatinização (COOKE; GIDLEY, 1992); além disso, as amostras que possuíam estruturas cristalinas mais fortes (1, 2, 3 e 7) requisitaram maior energia total, e conseqüentemente, registraram temperaturas mais elevadas.

Os resultados mostraram que as temperaturas *onset*, de pico e conclusão durante a gelatinização, variaram significativamente entre as sete amostras de amidos de pinhão analisadas, conforme também relatado por Costa et al. (2013) em um estudo entre amostras de diferentes acessos. Entretanto, para amidos retrogradados não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) nestes parâmetros.

As amostras deste estudo apresentaram diferença estatística tanto na entalpia de gelatinização quanto na entalpia de dissociação de amidos retrogradados, que variaram de 12,5 a 14,5 J.g<sup>-1</sup> e 3,7 a 6,9 J.g<sup>-1</sup>, respectivamente. Estes valores de  $\Delta H$  de gelatinização também foram similares aos reportados por Conforti e Lupano (2007), Pinto et al. (2012), Costa et al. (2013) e Klein et al. (2013).

Os valores das transições térmicas de dissociação dos amidos retrogradados, determinados por DSC, foram menores que os valores encontrados durante a gelatinização dos mesmos grânulos. Isso ocorre uma vez que sob armazenamento a baixas temperaturas, a estrutura desorganizada do amido se recristaliza de forma imperfeita, ou cristais pequenos são formados durante a retrogradação, e com isso, menos calor no processo é requerido pela amostra (COOKE; GIDLEY, 1992; YUAN; THOMPSON; BOYER, 1993; PAREDES-LÓPEZ; BELLO-PÉREZ; LÓPEZ, 1994). Esse fenômeno também pode ser verificado nos estudos de Bello-Pérez et al. (2006) com amido de pinhão, e em outros estudos com sementes como trigo (SONG; JANE, 2000) e sorgo (Al et al., 2011).



#### 4.2.4 Gelatinização e retrogradação do gel

A perda de água (sinérese) das pastas de amido de pinhão, armazenados sob congelamento a -20 °C durante 24, 48 e 72 h estão apresentadas na TABELA 11.

TABELA 11 - VALORES MÉDIOS DA PORCENTAGEM DE ÁGUA LIBERADA DAS PASTAS DE AMIDOS DE PINHÃO

Amostra	Sinérese em 24 h (%)	Sinérese em 48 h (%)	Sinérese em 72 h (%)
(1)	62,18±4,37 <sup>a</sup>	67,96±11,65 <sup>a</sup>	73,02±4,68 <sup>a</sup>
(2)	47,36±8,98 <sup>ab</sup>	49,30±0,93 <sup>ab</sup>	56,62±3,06 <sup>bc</sup>
(3)	45,36±5,04 <sup>ab</sup>	67,64±0,48 <sup>a</sup>	49,16±0,49 <sup>c</sup>
(4)	34,11±2,29 <sup>b</sup>	56,81±5,50 <sup>ab</sup>	49,13±0,68 <sup>c</sup>
(5)	38,80±2,75 <sup>b</sup>	48,38±1,37 <sup>ab</sup>	63,56±1,24 <sup>ab</sup>
(6)	38,36±5,28 <sup>b</sup>	37,24±1,34 <sup>b</sup>	53,96±1,08 <sup>bc</sup>
(7)	45,68±5,39 <sup>ab</sup>	49,02±5,79 <sup>ab</sup>	63,66±5,14 <sup>ab</sup>

Médias ± dp seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey.

As amostras de amidos de pinhão variaram significativamente ( $p < 0,05$ ) quanto à porcentagem de água liberada das pastas (sinérese), sendo que esta aumentou em três ciclos de congelamento e descongelamento, conforme também observado no estudo de Singh et al. (2006b) com amido de arroz. Esse aumento de sinérese pode ser atribuído às interações que ocorrem entre as amiloses lixiviadas e cadeias de amilopectina, que levam ao desenvolvimento de zonas de junção a cada congelamento e descongelamento e, por conseguinte, maior reorganização das moléculas gera maior liberação de água a cada ciclo (PERERA; HOOVER, 1999).

#### 4.2.5 Solubilidade em água e poder de inchamento dos amidos de pinhão

Os valores de solubilidade e poder de inchamento (PI) dos amidos de pinhão encontrados nas três temperaturas analisadas (55, 75 e 95 °C) estão apresentados na TABELA 12. Esses valores também estão representados na FIGURA 25.

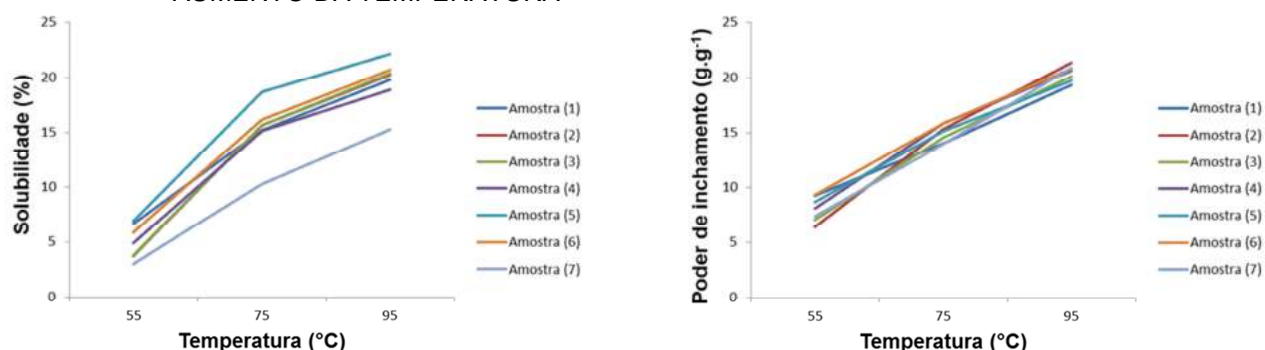
TABELA 12 - VALORES MÉDIOS DE SOLUBILIDADE E PODER DE INCHAMENTO DOS AMIDOS DE PINHÃO (1-3 PRECOSES E 4-7 CICLO MÉDIO)

Amostra	Solubilidade a 55 °C (%)	Solubilidade a 75 °C (%)	Solubilidade a 95 °C (%)	PI a 55 °C (g.g <sup>-1</sup> )	PI a 75 °C (g.g <sup>-1</sup> )	PI a 95 °C (g.g <sup>-1</sup> )
(1)	6,7±0,6 <sup>a</sup>	15,2±1,0 <sup>b</sup>	19,8±0,2 <sup>bc</sup>	9,3±0,1 <sup>a</sup>	14,1±0,1 <sup>c</sup>	19,3±0,1 <sup>a</sup>
(2)	3,7±0,2 <sup>cd</sup>	15,6±0,8 <sup>b</sup>	20,3±0,1 <sup>bc</sup>	6,3±0,1 <sup>b</sup>	15,3±0,2 <sup>ab</sup>	21,4±0,2 <sup>a</sup>
(3)	3,8±0,6 <sup>cd</sup>	15,6±0,0 <sup>b</sup>	20,4±0,3 <sup>bc</sup>	7,0±1,0 <sup>ab</sup>	14,6±0,2 <sup>bc</sup>	20,1±0,8 <sup>a</sup>
(4)	4,9±0,4 <sup>bc</sup>	15,1±0,2 <sup>b</sup>	18,9±0,1 <sup>c</sup>	8,0±0,8 <sup>ab</sup>	15,8±0,1 <sup>a</sup>	20,6±0,0 <sup>a</sup>
(5)	6,9±0,5 <sup>a</sup>	18,7±0,2 <sup>a</sup>	22,2±0,6 <sup>a</sup>	8,6±0,8 <sup>ab</sup>	15,2±0,0 <sup>ab</sup>	19,8±1,0 <sup>a</sup>
(6)	5,8±0,2 <sup>ab</sup>	16,2±0,2 <sup>b</sup>	20,7±0,2 <sup>ab</sup>	9,3±0,2 <sup>a</sup>	15,9±0,2 <sup>a</sup>	20,9±0,0 <sup>a</sup>
(7)	3,0±0,0 <sup>d</sup>	10,3±0,4 <sup>c</sup>	15,3±0,7 <sup>d</sup>	7,4±0,3 <sup>ab</sup>	14,0±0,6 <sup>c</sup>	20,9±0,7 <sup>a</sup>

PI, poder de inchamento.

Médias ± dp seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey.

FIGURA 25 - SOLUBILIDADE E PODER DE INCHAMENTO DOS AMIDOS DE PINHÃO COM O AUMENTO DA TEMPERATURA



Tanto para a solubilidade quanto para o PI (FIGURA 25) foi constatado aumento progressivo para os amidos de pinhão com o aumento da temperatura, conforme verificado nos trabalhos de Wosiacki e Cereda (1989) e Bello-Pérez et al. (2006). De acordo com Hoover (2001) e Singh et al. (2003), esse aumento do PI, consequentemente aumento no tamanho e solubilidade dos grânulos, com o aumento da temperatura é comum. Isso ocorre devido ao processo de aquecimento da suspensão amido-água provocar a quebra da estrutura cristalina por meio da ruptura das ligações de hidrogênio. As moléculas de água então se ligam aos grupos hidroxila de amilose e amilopectina desencadeando intensa absorção de água pelo grânulo. Os valores de solubilidade e PI dos amidos encontrados neste trabalho foram maiores que os reportados por Wosiacki e Cereda (1989) e Klein et al. (2013), no entanto, foram semelhantes aos de Bello-Pérez et al. (2006) e Stahl et al. (2007). Os resultados também mostraram que houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na solubilidade das amostras nas três temperaturas analisadas e somente a 95 °C as amostras não diferiram entre si quanto ao PI (TABELA 12).

#### 4.2.6 Claridade de pasta dos amidos de pinhão

Os valores da claridade das pastas dos amidos de pinhão foram dados em percentual de transmitância a 650 nm os quais foram detectados a 30 min e 24 h após o preparo (TABELA 13).

TABELA 13 - VALORES MÉDIOS DA CLARIDADE DE PASTA DOS AMIDOS DE PINHÃO

Amostra	T 30min (%)	T 24 h (%)
(1)	28,2±0,4 <sup>c</sup>	27,0±0,1 <sup>c</sup>
(2)	34,1±0,5 <sup>b</sup>	33,2±0,8 <sup>b</sup>
(3)	30,6±0,6 <sup>c</sup>	29,3±0,7 <sup>c</sup>
(4)	28,9±0,3 <sup>c</sup>	28,3±0,2 <sup>c</sup>
(5)	24,8±0,2 <sup>d</sup>	24,0±0,1 <sup>d</sup>
(6)	28,8±0,3 <sup>c</sup>	28,1±0,2 <sup>c</sup>
(7)	40,4±1,4 <sup>a</sup>	39,4±1,5 <sup>a</sup>

T, transmitância a 650 nm.

Médias ± dp seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey.

A claridade das pastas de amidos de pinhão diminuiu com o tempo de armazenamento (após 24 h), conforme também verificado por Stahl et al. (2007) estudando amido de pinhão; e as amostras apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre si. Essa diminuição da transmitância (aumento da turbidez) das pastas com o tempo de armazenamento pode estar relacionada com o rearranjo das moléculas de amilose e amilopectina, o que provoca maior absorção da luz (HOOVER, 2001; SINGH et al., 2003).

A amostra 5, que apresentou menor valor de transmitância, também foi a mesma que apresentou maior valor de solubilidade de pasta, enquanto que de forma inversa, a amostra 7, que apresentou maior valor de transmitância, apresentou menor valor de solubilidade de pasta. Estes resultados de claridade de pasta apresentados na TABELA 13 possivelmente possuem correlação com os resultados de solubilidade e PI apresentados na (TABELA 12), contudo, isso será discutido em conjunto na análise de correlação apresentada na sequência.

#### 4.2.7 Propriedades viscoamilográficas dos amidos de pinhão

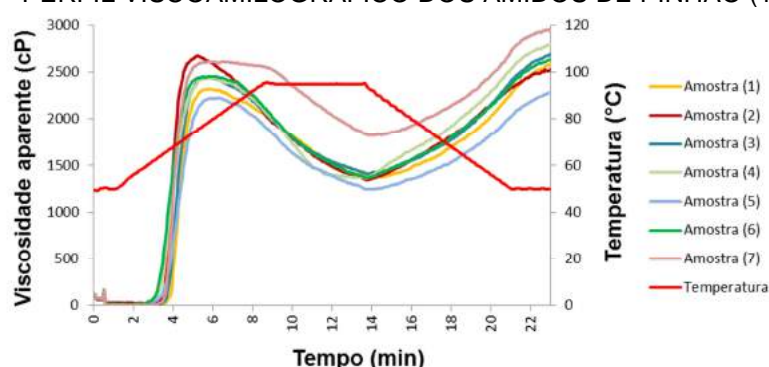
Os resultados das propriedades de pasta de amidos de pinhão apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) e estão mostrados na TABELA 14. O perfil viscoamilográfico de cada um dos amidos está apresentado na FIGURA 26.

TABELA 14 - PROPRIEDADES DE EMPASTAMENTO DOS AMIDOS DE PINHÃO (1-3 PRECOSES E 4-7 CICLO MÉDIO) DETERMINADAS POR VISCOAMILÓGRAFO RVA-4

Amostra	Temperatura de empastamento (°C)	Pico de viscosidade (cP)	Breakdown (cP)	Setback (cP)	Viscosidade final (cP)
(1)	62,1±0,2 <sup>a</sup>	2328,0±94,7 <sup>bc</sup>	962,5±24,8 <sup>bc</sup>	1226,0±25,5 <sup>b</sup>	2591,5±95,5 <sup>b</sup>
(2)	61,7±0,2 <sup>ab</sup>	2678,0±186,6 <sup>a</sup>	1337,0±25,5 <sup>a</sup>	1189,5±40,3 <sup>bc</sup>	2530,5±120,9 <sup>bc</sup>
(3)	61,2±0,2 <sup>bc</sup>	2456,0±26,9 <sup>abc</sup>	1047,5±40,3 <sup>b</sup>	1281,0±17,0 <sup>ab</sup>	2689,5±30,5 <sup>ab</sup>
(4)	60,7±0,2 <sup>cd</sup>	2442,0±4,2 <sup>abc</sup>	1077,5±111,0 <sup>b</sup>	1429,5±28,9 <sup>a</sup>	2794,0±77,8 <sup>ab</sup>
(5)	60,3±0,2 <sup>de</sup>	2231,0±21,2 <sup>c</sup>	990,5±10,6 <sup>bc</sup>	1046,5±10,6 <sup>c</sup>	2287,0±21,2 <sup>c</sup>
(6)	59,8±0,2 <sup>et</sup>	2464,5±6,4 <sup>abc</sup>	1100,0±72,1 <sup>b</sup>	1268,5±72,8 <sup>b</sup>	2633,0±5,7 <sup>b</sup>
(7)	59,4±0,2 <sup>i</sup>	2616,0±29,7 <sup>ab</sup>	797,5±14,9 <sup>c</sup>	1136,5±31,8 <sup>bc</sup>	2955,0±17,0 <sup>a</sup>

Médias ± dp seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey.

FIGURA 26 - PERFIL VISCOAMILÓGRÁFICO DOS AMIDOS DE PINHÃO (1-7)



Suspensões de amido em água, quando submetidas ao aquecimento, passam por um repentino aumento de viscosidade uma vez que há maior número de grânulos em condições de intumescimento. Neste ponto, polímeros com menor massa molar, particularmente moléculas de amilose, começaram a ser lixiviadas dos grânulos.

Ao analisar os resultados, pode-se dizer que a temperatura de empastamento para cada amostra de amido de pinhão esteve diretamente relacionada à temperatura de gelatinização ( $T_0$ ) (DSC) e variou de 59,4 a 62,1 °C. Picos de viscosidade máxima que variaram de 2231,0 a 2678,0 cP, foram medidos a partir da resistência do grânulo de amido ao colapso resultante da ação da temperatura e do atrito mecânico. Eles ocorrem durante o empastamento, quando os grânulos, em sua maioria, estavam totalmente inchados, após o início do aquecimento e antes do início do resfriamento. A manutenção da temperatura a 95 °C e agitação constante provocaram o rompimento desses grânulos, a solubilização dos polímeros e o alinhamento molecular dentro do campo de atrito do instrumento, causou uma diminuição da viscosidade (*breakdown*) de 797,5 a 1337,0 cP. Ao ocorrer resfriamento, alguns polissacarídeos liberados do interior dos

grânulos começaram a se reassociar através de novas ligações de hidrogênio e formaram um precipitado ou gel com aumento na viscosidade e opacidade da pasta. Este processo chamado de retrogradação ou *setback* variou de 1046,5 a 1429,5 cP atingindo viscosidade final de 2287,0-2955,0 cP.

Todos estes valores foram semelhantes aos reportados por Costa et al. (2013) bem como a temperatura de empastamento encontrada nos estudos de Stahl et al. (2007) (59,6 °C), Pinto et al. (2012) (64,6 °C) e Klein et al. (2013) (64,6 °C), porém os demais valores encontrados neste trabalho foram inferiores aos reportados por estes três últimos estudos. Costa et al. (2013) atribuíram essa diferença nos valores às amostras serem obtidas de diferentes acessos.

Além disso, diferentes comportamentos viscoamilográficos de amidos da mesma espécie podem ocorrer devido ao diferente grau de interação entre o amido e compostos associados durante o empastamento tais como: proteínas, lipídios e outros (ZHANG; AO; HAMAKER, 2008).

#### 4.2.8 Digestibilidade *in vitro* dos amidos de pinhão

Os dados de amido rapidamente digerido (ARD), lentamente digerido (ALD) e amido resistente (AR) para as sete amostras de amido de pinhão foram obtidos após o cozimento, calculados como percentagem do total de amido e são mostrados na TABELA 15.

TABELA 15 - CONTEÚDO DE ARD, ALD E AR NOS AMIDOS DE PINHÃO (1-3 PRECOCES E 4-7 CICLO MÉDIO)

Amostra	ARD (%)	ALD (%)	AR (%)
(1)	91,1±0,2 <sup>ab</sup>	2,5±0,9 <sup>c</sup>	6,4±0,7 <sup>abc</sup>
(2)	90,4±0,5 <sup>abc</sup>	0,7±0,1 <sup>d</sup>	9,0±0,4 <sup>a</sup>
(3)	90,0±2,0 <sup>abc</sup>	2,5±0,2 <sup>c</sup>	7,6±2,2 <sup>ab</sup>
(4)	88,4±0,3 <sup>bc</sup>	4,2±0,3 <sup>ab</sup>	7,4±0,0 <sup>ab</sup>
(5)	87,4±0,5 <sup>c</sup>	4,7±0,2 <sup>a</sup>	7,8±0,7 <sup>ab</sup>
(6)	92,6±0,1 <sup>a</sup>	4,4±0,2 <sup>ab</sup>	3,0±0,3 <sup>c</sup>
(7)	91,9±0,2 <sup>a</sup>	2,9±0,4 <sup>bc</sup>	5,2±0,2 <sup>bc</sup>

ARD, amido rapidamente digerido; ALD, amido lentamente digerido; AR, amido resistente.

Médias ± dp seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey.

De acordo com Zhang, Ao e Hamaker (2006), a digestibilidade do amido pode ser influenciada tanto pela estrutura intrínseca incluindo macroestrutura e estrutura molecular quanto por fatores extrínsecos como a matriz alimentar e o modo

de processamento do alimento. Moore et al. (2015), apontam que a origem botânica do amido e o método de análise para determinação seriam os principais fatores. No presente estudo, pode-se afirmar ainda que as diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) não estão atreladas apenas à maturação, mas também, aos diferentes acessos em uma mesma espécie, o que indica que a procedência pode influenciar na qualidade nutricional de materiais amiláceos.

O método de Englyst (ENGLYST; KINGMAN; CUMMINGS, 1992) foi aplicado ao amido de pinhão cozido, e os conteúdos médios de ARD, ALD e AR encontrados foram 90,3; 3,1 e 6,6%, respectivamente. Estes resultados estiveram de acordo com os estudos de Zhang, Sofyan e Hamaker (2008), ao constatarem que o cozimento conduz a uma grande perda de ALD.

Embora o conteúdo de ARD tenha sido o de maior proporção em todas as amostras, os mesmos foram inferiores aos do amido de milho cozido (97,2%) reportado por Ai et al. (2013). No entanto, estes mesmos autores encontraram conteúdos de ALD e AR para o amido de milho, 2,0 e 0,8%, inferiores aos amidos de pinhão.

Desse modo, como existem estudos que comprovam que a presença de ALD é considerada geralmente a forma mais desejável de amido dietético, pode-se cogitar que pelo conteúdo de ALD presente no amido de pinhão, o consumo deste tende a possuir vantagens nutricionais relacionadas à digestibilidade. Além disso, o AR auxilia na inibição de células cancerígenas do cólon (pelo processo de fermentação), contribui na prevenção de problemas de saúde como diabetes, obesidade e síndrome metabólica, além de promover redução calórica, dentre muitos outros benefícios. A energia fornecida pelo AR é liberada aos poucos para o organismo, dessa forma, o mesmo irá queimar gordura como fonte de energia no lugar dos carboidratos (PEREIRA, 2007; ZHANG; SOFYAN; HAMAKER, 2008; FINLEY et al., 2010; FUENTES-ZARAGOZA et al., 2010).

Portanto, essa quantidade significativa de amido resistente no amido de pinhão pode permitir sua aplicação como fonte de fibra alimentar, considerado resistente à digestão, proporcionando melhor textura ao produto se comparado a outros tipos de fibras.

Uma das características do consumo de pinhão pode estar relacionada à incidência de flatulência. Estudos reportam que a presença de elevada quantidade de amido resistente pode aumentar a incidência de gases produzidos no organismo

devido à fermentação bacteriana que ocorre no cólon do intestino (PHILLIPS et al., 1995). Assim como o amido presente em leguminosas, embora o consumo de pinhão possa estar relacionado a tais efeitos colaterais, o efeito benéfico da presença em grande quantidade de amido lentamente digerido e amido resistente, pode ser um diferencial na prevenção de doenças.

#### 4.2.9 Correlações entre estrutura molecular e propriedades funcionais do amido de pinhão

Para investigar as correlações entre a estrutura molecular e as propriedades funcionais do amido de pinhão, os resultados das análises dos amidos obtidos neste trabalho foram investigados através da análise de correlação de Pearson ( $p < 0,05$  ou seja, 95% de significância), mostrada nas TABELAS 16 e 17.

TABELA 16 - COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO DE PEARSON ENTRE CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO AMIDO DE PINHÃO

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1. Conteúdo de amilose (%)	1							
2. $M_w$ ( $10^8$ g/mol)	-0,04	1						
3. $R_z$ (nm)	-0,07	0,85**	1					
4. DP 6-12 (%)	-0,07	-0,52	-0,55*	1				
5. DP 13-24 (%)	0,31	0,51	0,59*	-0,72**	1			
6. DP 25-36 (%)	0,31	0,73**	0,80**	-0,60*	0,89**	1		
7. DP > 37 (%)	-0,27	0,06	0,01	-0,58*	-0,14	-0,23	1	
8. Média de comp. da cadeia (DP)	-0,18	0,35	0,29	-0,83**	0,21	0,14	0,92**	1
9. $T_p$ Gel (°C)	0,65*	0,03	0,11	-0,65*	0,47	0,29	0,40	0,48
10. $T_c$ Gel (°C)	0,66*	0,44	0,48	-0,71**	0,67**	0,63*	0,21	0,42
11. $\Delta H$ Gel (J/g)	0,15	-0,30	-0,24	-0,50	0,12	-0,13	0,63*	0,55*
12. $T_0$ Ret (°C)	0,23	-0,13	-0,17	0,38	0,11	0,04	-0,64*	-0,59*
13. $T_c$ Ret (°C)	0,60*	-0,38	-0,45	0,00	-0,20	-0,28	0,26	0,13
14. Sinérese em 48h (%)	0,39	-0,18	0,02	-0,63*	0,53*	0,26	0,32	0,43
15. Índice de solubilidade a 75°C (%)	0,08	-0,45	-0,30	0,44	-0,01	0,05	-0,62*	-0,61*
16. Índice de solubilidade a 95°C (%)	0,12	-0,46	-0,34	0,41	-0,02	0,03	-0,56*	-0,56*
17. PI a 55°C (g/g)	-0,65*	-0,04	0,31	0,00	0,04	0,08	-0,06	-0,06
18. PI a 75°C (g/g)	-0,44	-0,40	-0,54*	0,68**	-0,63*	-0,54*	-0,23	-0,40
19. PI a 95°C (g/g)	-0,18	-0,02	-0,34	0,35	-0,64*	-0,55*	0,23	0,05
20. Temp. de empastamento (°C)	0,49	-0,76**	-0,55*	0,00	0,00	-0,25	0,08	-0,05
21. Breakdown (cP)	0,21	-0,70**	-0,81**	0,62*	-0,64*	-0,62*	-0,11	-0,35
22. Setback (cP)	-0,48	-0,42	-0,50	-0,14	-0,29	-0,53*	0,60*	0,47
23. Viscosidade final (cP)	-0,27	0,35	0,20	-0,51	-0,04	-0,13	0,79**	0,78**
24. ARD (%)	-0,24	0,26	0,23	-0,27	-0,30	-0,12	0,68**	0,59*
25. ALD (%)	-0,66**	0,27	0,34	0,09	0,18	0,23	-0,35	-0,22
26. AR (%)	0,69**	-0,43	-0,45	0,19	0,15	-0,04	-0,39	-0,40

$M_w$ , massa molar média;  $R_z$ , raio de giro da amilopectina; DP, grau de polimerização;  $T_0$ ,  $T_p$ ,  $T_c$ , e  $\Delta H$ , temperatura onset, de pico e de conclusão, e variação de entalpia de gelatinização e de dissociação, respectivamente; PI, poder de inchamento; ARD, amido rapidamente digerido; ALD, amido lentamente digerido; AR, amido resistente.

\*, \*\* indica níveis significância a 95 e 99%, respectivamente.

TABELA 17 - COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO DE PEARSON ENTRE PROPRIEDADES FUNCIONAIS, PROPRIEDADES DE EMPASTAMENTO E DE DIGESTIBILIDADE *IN VITRO*

		16.	17.	18.	19.	20.	21.
1.	T <sub>0</sub> Gel (°C)	0,74**	0,20	0,22	0,17	-0,76**	0,37
2.	T <sub>p</sub> Gel (°C)	0,57*	0,20	0,25	0,14	-0,71**	0,37
3.	ΔH Gel (J/g)	0,63*	0,05	0,27	0,36	-0,46	-0,01
4.	T <sub>0</sub> Ret (°C)	-0,02	-0,20	-0,32	-0,76**	0,26	0,53
5.	T <sub>c</sub> Ret (°C)	0,60*	0,54*	0,08	0,21	-0,74**	0,32
6.	ΔH Ret (J/g)	0,68**	-0,03	-0,06	0,35	-0,53	0,04
7.	Sinérese em 24h (%)	0,57*	0,06	0,00	0,34	-0,48	0,02
8.	Sinérese em 48h (%)	0,66**	-0,15	0,12	-0,21	-0,37	0,45
9.	Índice de solubilidade a 55°C (%)	0,19	-0,79**	-0,62*	-0,29	0,52	-0,09
10.	Índice de solubilidade a 75°C (%)	0,32	-0,59*	-0,86**	-0,52	0,28	0,29
11.	Índice de solubilidade a 95°C (%)	0,37	-0,53	-0,86**	-0,41	0,21	0,23
12.	PI a 55°C (g/g)	-0,14	-0,62*	-0,22	0,15	0,61*	-0,56*
13.	PI a 95°C (g/g)	-0,32	0,72**	0,33	0,32	-0,26	-0,12
14.	Claridade em 30 min (%T)	-0,31	0,80**	0,71**	0,52	-0,52	-0,12
15.	Claridade em 24 h (%T)	-0,34	0,81**	0,71**	0,51	-0,50	-0,13
16.	Temp. de empastamento (°C)	1	-0,08	-0,30	-0,19	-0,57*	0,57*
17.	Pico de viscosidade (cP)		1	0,58*	0,45	-0,62*	0,02
18.	Viscosidade final (cP)			1	0,45	-0,15	-0,31
19.	ARD (%)				1	-0,27	-0,74**
20.	ALD (%)					1	-0,45
21.	AR (%)						1

T<sub>0</sub>, T<sub>p</sub>, T<sub>c</sub>, e ΔH, temperatura *onset*, de pico e de conclusão, e variação de entalpia de gelatinização e de dissociação, respectivamente; PI, poder de inchamento; ARD, amido rapidamente digerido; ALD, amido lentamente digerido; AR, amido resistente.

\*, \*\* indica níveis significância a 95 e 99%, respectivamente.

O teor de amilose aparente apresentou correlação positiva tanto com a temperatura de gelatinização (T<sub>p</sub> e T<sub>c</sub>) (r=0,655 e 0,659), quanto com a temperatura de conclusão de dissociação de amidos retrogradados (T<sub>c</sub>) (r=0,605). Segundo Park et al. (2007), amidos com alto teor de amilose restringem a hidratação de regiões amorfas, fazendo com que mais energia seja necessária para iniciar a fusão, ou seja, o início da gelatinização é retardado, o que faz com que as temperaturas de gelatinização destes amidos sejam superiores às dos amidos com alto teor de amilopectina, que consistem principalmente de regiões cristalinas e portanto, podem iniciar a gelatinização a uma temperatura inferior.

A retrogradação, por sua vez, que corresponde à recristalização dos grânulos, envolve sobretudo, a reorganização de moléculas de amilose lixiviadas, dessa forma, esta fração interfere diretamente, o que também foi verificado nos estudos de Song e Jane (2000) onde amidos com maior teor de amilose indicaram taxas de retrogradação mais elevadas.

Também houve correlação positiva entre amilose e teor de amido resistente (r=0,687), assim como encontrado em estudos anteriores (ZHANG et al., 2007; LI et



al., 2008; ZHANG; SOFYAN; HAMAKER, 2008; CHUNG et al., 2011; CAI et al., 2015); e negativa com conteúdo de amido de lenta digestão (ALD) ( $r=-0,664$ ) (CAI et al., 2015). De acordo com Zhang, Sofyan e Hamaker (2008), as moléculas de amilose lixiviadas durante e após a gelatinização do amido se reassociam rapidamente para formar estruturas cristalinas que são resistentes à digestão, o que pode estar associado aos resultados obtidos neste estudo.

Entre o conteúdo de amilose e o poder de inchamento, também foi encontrada correlação negativa ( $r=-0,652$  a  $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Segundo Kusumayanti, Handayani e Santosa (2015), amidos com maior quantidade de associações intermoleculares e maiores teores de amilose tendem a apresentar menor poder de inchamento.

O raio de giro ( $R_z$ ) apresentou correlação negativa com a porcentagem de cadeias laterais curtas (DP 6-12) de amilopectina ( $r=-0,549$ ) e positiva com as porcentagens de cadeias de amilopectina DP 13-24 e DP 25-36 ( $r=0,593$  e  $0,797$ ) enquanto a massa molar ( $M_w$ ) teve correlação com a porcentagem de ramificações DP 25-36 ( $r=0,729$ ), estando de acordo com o estudo de Ao et al. (2007) no qual os autores verificaram que em amidos de milho cujo teor de cadeias mais curtas era elevado, os mesmos tinham a massa molar reduzida quando comparados com o controle. Considerando-se a similaridade do material genético em estudo, pode-se interpretar que durante a biossíntese do amido torna-se aceitável tal comportamento de menor massa molar nos amidos com maior porcentagem de cadeias laterais curtas (DP 6-12) de amilopectina.

Algumas propriedades térmicas como temperatura de pico e de conclusão ( $T_p$  e  $T_c$ ) de gelatinização apresentaram correlação negativa com as proporções de cadeias curtas de amilopectina (DP 6-12) ( $r=-0,647$  e  $-0,708$ , respectivamente) e positiva ( $T_c$ ) com as de cadeias médias (DP 13-24 e DP 25-36) ( $r=0,671$  e  $0,628$ , respectivamente), e  $\Delta H$  de gelatinização com as de cadeias longas (DP $\geq$ 37) ( $r=0,627$ ), conforme correlações também reportadas por Vandeputte et al. (2003) e Park et al. (2007). Grânulos de amido com elevado teor de ramificações longas de amilopectina indicam maior resistência ao inchamento devido a maior resistência ao cisalhamento, conseqüentemente, as temperaturas de gelatinização tendem a ser maiores (PARK et al., 2007). Já a presença de cadeias ramificadas curtas de amilopectina provoca um decréscimo na estabilidade da estrutura de dupla hélice, reduzindo a resistência, que pode induzir a uma menor temperatura de gelatinização

(JANE et al., 1999; SONG; JANE, 2000; FRANCO et al., 2002; CHUNG et al., 2011; ROCHA et al., 2011).

Em relação à temperatura *onset* de dissociação de amidos retrogradados ( $T_0$ ), a correlação é inversa (negativa) com a presença de cadeias longas de amilopectina ( $DP \geq 37$ ) ( $r = -0,641$ ). Nos estudos de Yoo e Jane (2002b) pode-se verificar que em amidos com maior porcentagem de cadeias longas de amilopectina ( $DP \geq 37$ ), a temperatura de *onset* ( $T_0$ ) de dissociação dos amidos retrogradados também foi menor.

As propriedades de pasta (temperatura de empastamento e *breakdown*) dos amidos de pinhão tiveram correlação negativa com  $M_w$  ( $r = -0,759$  e  $-0,698$ , respectivamente),  $R_z$  ( $r = -0,550$  e  $-0,814$ , respectivamente), e o *breakdown* ainda com cadeias médias de amilopectina DP 13-24 e DP 25-36 ( $r = -0,637$  e  $-0,621$ , respectivamente) e positiva com cadeias curtas de amilopectina DP 6-12 ( $r = 0,616$ ), conforme também reportado nos estudos de Zhang, Sofyan e Hamaker (2008). O *setback* e a viscosidade final tiveram correlação positiva com a porcentagem de cadeias longas de amilopectina ( $DP \geq 37$ ) ( $r = 0,603$  e  $0,790$ , respectivamente), indicando que cadeias ramificadas de amilopectina de maior comprimento produzem grande efeito sinérgico na viscosidade de pastas de amidos reconstituídos, como também verificado nos estudos de Jane e Chen (1992).

A análise de correlação de Pearson mostrou correlação negativa entre poder de inchamento a 95 °C com as porcentagens de cadeias ramificadas médias de amilopectina (DP 13-24 e 25-36) ( $r = -0,635$  e  $-0,551$ ); e a 75 °C com estes tamanhos de cadeias de amilopectina ( $r = -0,632$  e  $-0,540$ ); com  $R_z$  ( $r = -0,541$ ); e correlação positiva com a porcentagem de cadeias curtas de amilopectina (DP 6-12) ( $r = 0,684$ ). Quanto maior a presença de cadeias curtas de amilopectina, mais fracas são as interações entre as moléculas, o que permite que cadeias curtas absorvam água mais rapidamente e alcancem um elevado poder de inchamento mais facilmente (SINGH; MCCARTHY; SINGH, 2006; CHUNG et al., 2011). Cai et al. (2015) além de terem verificado isso em seus estudos, perceberam que à medida que a porcentagem de cadeias médias de amilopectina presentes no amido aumenta, a estabilidade entre as interações, ou seja, a cristalinidade do grânulo vai aumentando, o que dificulta o inchamento.

A solubilidade a 75 e 95 °C com cadeias ramificadas longas de amilopectina ( $DP \geq 37$ ) também apresentaram correlação negativa ( $r = -0,616$  e  $-0,560$ ), o que pode

ser justificado pelo comportamento de cadeias lineares muito longas de amilopectina estarem propensas a seguir o comportamento da amilose, ou seja, possuírem tendência a formar mais interações intermoleculares e conseqüentemente, serem menos solúveis.

Neste estudo, a sinérese após 48 h foi menor nos amidos com maior quantidade de cadeias curtas de amilopectina (DP 6-12) ( $r=-0,628$ ) e aumentou à medida que se aumentou a presença de cadeias médias curtas (DP 13-24) ( $r=0,535$ ). Hoover e Sosulski (1991) reportam que a intensidade da sinérese pode ser atribuída às cadeias que formam o polímero e ao grau de polimerização da amilose e amilopectina.

A análise de DSC mostra o somatório dos eventos térmicos enquanto a análise obtida pelo RVA a mudança da viscosidade devido ao intumescimento do grânulo provocado por ação mecânica durante também um aquecimento. Então como esperado, os valores de  $T_0$ ,  $T_p$  e  $\Delta H$  de gelatinização e  $T_c$  e  $\Delta H$  de dissociação dos amidos retrogradados tiveram correlação positiva com a temperatura de empastamento ( $r=0,739$ ,  $0,572$ ,  $0,629$ ,  $0,603$  e  $0,675$ , respectivamente), bem como  $T_c$  de dissociação dos amidos retrogradados com pico de viscosidade ( $r=0,542$ ).

O pico de viscosidade apresentou correlação negativa com o poder de inchamento a  $55\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $r=-0,618$ ), porém, positiva a  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $r=0,717$ ). De acordo com Pereda et al. (2005) e Zavareze et al. (2009), quando a temperatura de uma suspensão de amido supera a temperatura de empastamento, ocorre a quebra das ligações de hidrogênio, as moléculas de água se ligam aos grupos hidroxilas disponíveis e os grânulos incham, provocando aumento na viscosidade uma vez que os grânulos inchados aderem-se uns aos outros, inclusive dando à solução o aspecto de pasta.

O pico de viscosidade bem como a viscosidade final estão positivamente correlacionados com a claridade de pasta ( $r=0,800$  e  $0,709$  a 30 min e  $r=0,810$  e  $0,709$  a 24 h), uma vez que à medida que se aumenta o calor fornecido à suspensão, a água vai sendo cada vez mais absorvida e agregada à estrutura da pasta, o que influencia a viscosidade e resulta em maior transmitância da luz (CRAIG et. al., 1989); e negativamente correlacionados com a solubilidade ( $r=-0,787$  e  $-0,624$  a  $55\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $r=-0,589$  e  $-0,858$  a  $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), e viscosidade final com solubilidade a  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $r=-0,863$ ). Como consequência da lixiviação da amilose, quando a solubilidade do amido é grande provavelmente o que ocorre é um enfraquecimento

das ligações, com diminuição nas interações entre as moléculas de amilose e amilopectina e entre as moléculas de amilopectina, formando uma estrutura menos estável e consequentemente com menor pico de viscosidade (GOMES; SILVA; RICARDO, 2005).

Correlações negativas foram encontradas entre  $T_0$ ,  $T_p$  de grânulos durante a gelatinização,  $T_c$  de dissociação de amidos retrogradados, temperatura de empastamento e pico de viscosidade com ALD ( $r=-0,758$ ,  $-0,715$ ,  $-0,738$ ,  $-0,571$  e  $-0,634$ , respectivamente). De acordo com Zhang, Ao e Hamaker (2006) estudando a digestibilidade de cereais, a gelatinização do amido, por romper a estrutura cristalina do grânulo, provoca uma diminuição ou perda da propriedade de digestão lenta de amidos nativos (ALD). Em outros estudos, Zhang, Sofyan, Hamaker (2008) discutem que a quantidade de ALD é dependente do processo que ocorre após a gelatinização, no caso, a retrogradação.

O amido rapidamente digerido (ARD) presente nos amidos de pinhão teve correlação positiva com as cadeias ramificadas longas de amilopectina ( $DP \geq 37$ ) ( $r=0,684$ ), como também verificado nos estudos de Ao et al. (2007), onde amido de milho regular contendo ramificações de cadeias longas teve maior valor de ARD, quando comparado com o mesmo amido tratado enzimaticamente, cujas ramificações tornaram-se curtas.

Zhang, Sofyan, Hamaker (2008) citam que quando amidos cuja amilopectina possui maior proporção de cadeias curtas a atuação das enzimas amilolíticas é retardada devido à ocorrência de maior densidade dessas ramificações dificultarem a digestão enzimática e por isso, considerarem o amido como sendo de lenta digestibilidade. De forma contrária ocorre se o amido possui maior proporção de amilopectina de cadeias longas.

Pelo método de Englyst a digestibilidade dos amidos pode ser mais rápida se existir menor quantidade de ramificações (ligações  $\alpha-1,6$ ) ou se estas ramificações possuírem grande número de ligações lineares ( $\alpha-1,4$ ) que ao serem hidrolisadas moléculas de glicose serão rapidamente liberadas (ZHANG; AO; HAMAKER, 2006). O que pode também ser levado em consideração para a correlação negativa entre ARD e  $T_0$  de dissociação de amidos retrogradados ( $r=-0,764$ ), onde se supõe que a uma menor temperatura de dissociação seja provocada uma rápida reorganização de moléculas principalmente compostas por cadeias

lineares (amilose), ou amilopectina de cadeias longas, e por conseguinte, estas sejam facilmente hidrolisadas à glicose.

### 4.3 EXTRUSADOS DE PINHÃO

#### 4.3.1 Rendimento do processo de extrusão termoplástica

O diagrama de fluxo de produção bem como o balanço de massa, desde a matéria-prima inicial (pinhões) até a obtenção do produto final (*snacks*/extrusados de pinhão) encontra-se apresentado no APÊNDICE 2, o mesmo descreve que de 1 kg de pinhão (com casca e aproximadamente 43,0% de umidade), foram obtidos aproximadamente 375 g de extrusados (com aproximadamente 7,0% umidade), o equivalente a 37,5% de rendimento.

#### 4.3.2 Caracterização dos extrusados

A composição centesimal do extrusados de pinhão (tratamento central) foi:  $7,01 \pm 0,10\%$  de umidade,  $86,20 \pm 1,16\%$  de carboidratos,  $5,78 \pm 0,22\%$  de proteínas,  $0,88 \pm 0,13\%$  de lipídios,  $2,47 \pm 0,60\%$  de cinzas,  $4,68 \pm 0,55\%$  de fibra alimentar (b.s.). Em comparação com a matéria-prima, o processo de extrusão, além da perda de umidade, ocasionou também perda de 51% do teor de lipídios, e ganho de 28% de fibra alimentar. O extrusado de pinhão é, portanto, um alimento rico em carboidratos, com baixo conteúdo lipídico e considerável teor de fibra alimentar.

#### 4.3.3 Energia mecânica específica e índices de expansão

A TABELA 18 apresenta os valores de energia mecânica específica (EME), densidade aparente ( $\rho$ ) e índices de expansão seccional (IES), longitudinal (IEL) e volumétrica (IEV), verificados no processo de extrusão e nos extrusados de pinhão.

TABELA 18 - ENERGIA MECÂNICA ESPECÍFICA DO PROCESSO, DENSIDADE APARENTE E ÍNDICES DE EXPANSÃO DOS EXTRUSADOS OBTIDOS

Tratamento	Variáveis independentes			Variáveis dependentes				
	X1	X2	X3	EME (kJ.kg <sup>-1</sup> )	$\rho$ (kg.m <sup>-3</sup> )	IES	IEL	IEV
01	15,5	130	136	1059,44	196,34±12,57	7,94±0,48	2,06±0,07	16,31±1,01
02	20,5	130	136	599,05	596,58±53,08	5,40±0,48	0,58±0,01	3,14±0,27
03	15,5	220	136	1002,73	152,93±18,78	7,73±0,46	3,00±0,39	23,11±2,41
04	20,5	220	136	711,93	423,53±24,16	6,08±0,30	0,81±0,02	4,90±0,28
05	15,5	130	184	438,75	279,88±26,73	7,88±0,68	1,13±0,05	8,93±0,80
06	20,5	130	184	906,36	459,59±33,64	3,74±0,28	1,43±0,08	5,35±0,42
07	15,5	220	184	837,17	168,39±10,86	8,04±0,63	2,42±0,20	19,36±1,20
08	20,5	220	184	778,20	423,13±25,38	4,38±0,25	1,28±0,04	5,59±0,34
09	18,0	175	160	643,93	351,94±20,31	4,02±0,32	2,28±0,20	9,10±0,52
10	18,0	175	160	792,78	324,57±31,15	5,74±0,45	1,32±0,11	7,59±0,78
11	18,0	175	160	722,48	289,93±23,71	5,33±0,45	1,86±0,10	9,89±0,78
12	14,0	175	160	917,91	150,73±13,21	9,75±0,64	2,89±0,24	28,13±2,49
13	22,0	175	160	792,63	496,48±37,14	3,98±0,37	1,19±0,11	4,70±0,35
14	18,0	100	160	843,78	393,23±25,69	3,95±0,35	2,03±0,15	8,00±0,53
15	18,0	250	160	677,35	318,59±22,17	4,77±0,39	1,73±0,12	8,24±0,56
16	18,0	175	120	638,84	368,70±41,62	7,34±0,92	0,94±0,06	6,86±0,73
17	18,0	175	200	665,47	303,06±19,61	4,99±0,32	2,06±0,07	10,29±0,67

X1, umidade; X2, velocidade de rotação; X3, temperatura; EME, energia mecânica específica;  $\rho$ , densidade aparente; IES, índice de expansão seccional; IEL, índice de expansão longitudinal; IEV, índice de expansão volumétrica.

A EME da extrusora durante o processamento de extrusados de pinhão teve uma média de 766,40 kJ.kg<sup>-1</sup>.

Os ensaios 01 e 03, cujas umidades e temperaturas combinadas foram as menores no planejamento (15,5 g.100g<sup>-1</sup> e 136 °C), resultaram em maior energia mecânica específica (1059,44 e 1002,73 kJ.kg<sup>-1</sup>, respectivamente), enquanto que os demais tratamentos que apresentaram maior teor de umidade ou temperaturas mais elevadas, resultaram em EME menores, ou seja, a combinação destes dois fatores influenciou significativamente este parâmetro, conforme efeitos estimados mostrados na TABELA 19.

TABELA 19 - EFEITOS ESTIMADOS PARA ENERGIA MECÂNICA ESPECÍFICA

Fator	Efeito estimado
Intercepto	<b>717,5725*</b>
Umidade (linear)	-81,0222
Rotação (linear)	6,8137
Temperatura (linear)	-53,8767
Umidade (quadrático)	110,7165
Rotação (quadrático)	43,7494
Temperatura (quadrático)	-32,9049
Interação umidade e rotação	-89,2516
Interação umidade e temperatura	<b>289,9583*</b>
Interação rotação e temperatura	53,5239

\* p<0,05.

Na faixa experimental adotada neste trabalho não foi possível obter um modelo que predissesse a EME a um intervalo de 95% de confiança.

O aumento da EME observado nos tratamentos com menores valores de umidade explica-se pela elevação do atrito mecânico ao deslocar o material fundido dentro da extrusora até a saída da matriz. De acordo com Willett, Millard e Jasberg (1997) e Padmanabhan (2008), ao aumentar a temperatura, a viscosidade do material diminui e a vazão aumenta, reduzindo a energia mecânica específica, o que pode ser observado no tratamento 05, cuja energia mecânica específica ( $438,75 \text{ kJ.kg}^{-1}$ ) foi menor se comparada com a dos demais tratamentos à mesma umidade e rotação. A água exerce ação lubrificante, com maior teor de umidade, a vazão se torna mais fácil e ocasiona diminuição da EME mesmo em baixas temperaturas. Isso também pode ser observado no trabalho de Torres et al. (2005).

A densidade aparente é uma forma de quantificar indiretamente a eficiência do processo de extrusão, além de permitir avaliar objetivamente quão leves ou pesados são os extrusados elaborados e, conseqüentemente, prever sua aceitabilidade pelo consumidor (CARVALHO et al., 2010a). Os extrusados que apresentaram maior densidade aparente foram os obtidos pelos tratamentos cujo valor da umidade era elevado. De acordo com Wang, Jing e Yuan (2007), o valor da densidade aparente é, na maioria dos casos, inversamente proporcional ao índice de expansão, o que também pode ser observado neste trabalho.

Os valores obtidos para o IES dos produtos extrusados variaram de 3,74 a 9,75 (TABELA 18). A análise dos coeficientes de regressão mostrou ter influência significativa da umidade sobre IES dos extrusados (TABELA 20).

O IEL dos extrusados variou de 0,58 a 3,00 (TABELA 18). Ao nível de 5% de significância, conforme o modelo de 1ª ordem que foi o melhor ajustado na faixa experimental adotada, nenhum parâmetro foi significativo (TABELA 20).

Os resultados de IEV dos extrusados variaram de 3,14 a 28,13 (TABELA 18). O modelo de regressão foi significativo para o IEV, sendo observados efeitos da umidade, rotação e interação dos fatores umidade e rotação sobre essa característica (TABELA 20).

TABELA 20 - COEFICIENTES DE REGRESSÃO ESTIMADOS PARA OS ÍNDICES DE EXPANSÃO  
(MODELO  $y_k = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3$ )

Coeficientes	Variáveis dependentes		
	IES	IEL	IEV
$\beta_0$ (intercepto)	<b>4,9942*</b>	<b>1,7065*</b>	<b>8,8814*</b>
$\beta_1$ (U)	<b>-1,5885*</b>	-0,5396	<b>-6,4535*</b>
$\beta_2$ (R)	0,1940	0,1322	<b>1,4376*</b>
$\beta_3$ (T)	-0,5171	0,1240	-0,1802
$\beta_{11}$ (U <sup>2</sup> )	0,7721	-	<b>2,5973*</b>
$\beta_{22}$ (R <sup>2</sup> )	-0,1135	-	-0,3354
$\beta_{33}$ (T <sup>2</sup> )	0,5246	-	-0,1746
$\beta_{12}$ (U*R)	0,1713	-0,2688	<b>-1,9038*</b>
$\beta_{13}$ (U*T)	-0,4513	0,3538	1,7538
$\beta_{23}$ (R*T)	0,0413	-0,0038	0,2638
R <sup>2</sup>	0,9420	0,7540	0,9480
CV	3,0110	5,8210	0,3460
P-valor <sub>(lack-of-fit)</sub>	0,8386	0,6613	0,1588

IES, índice de expansão seccional; IEL, índice de expansão longitudinal; IEV, índice de expansão volumétrica;  $\beta_1$  (U), umidade (linear);  $\beta_2$  (R), rotação (linear);  $\beta_3$  (T), temperatura (linear);  $\beta_{11}$  (U<sup>2</sup>), umidade (quadrático);  $\beta_{22}$  (R<sup>2</sup>), rotação (quadrático);  $\beta_{33}$  (T<sup>2</sup>), temperatura (quadrático); R<sup>2</sup>, coeficiente de determinação; CV (%), coeficiente de variação em porcentagem.

\* p<0,05.

Os materiais processados com menores teores de umidade resultaram em extrusados com maiores índices de expansão. Segundo Ding et al. (2005), o aumento da quantidade de água, durante a extrusão, pode mudar a estrutura molecular da amilopectina do material, agindo como um plastificante para materiais amiláceos, ocasionando uma redução da viscosidade e dissipação da energia mecânica na extrusora. O produto torna-se mais denso fazendo com que o crescimento de bolhas seja comprimido e com isso, ocorra diminuição da expansão.

Vários trabalhos têm demonstrado que o IE decresce significativamente com o incremento do teor de umidade devido à relação que ocorre entre a quantidade de água e a força do gel formado durante a extrusão. Em amostras extrusadas derivadas de material com alto teor de umidade, o gel tende a ser mais elástico e gera uma matriz de pequenas células uniformes. Estas evidências foram constatadas por Chang e El-Dash (2003), extrusando fécula de mandioca, e por Clerice e El-Dash (2008), extrusando farinha de arroz. Borba, Sarmiento e Leonel (2005), avaliando o efeito de parâmetros operacionais na extrusão de farinha de batata doce, obtiveram IE de 1,9 a 2,6, sendo que nas condições de baixa umidade (15%) foram obtidos os maiores IE, assim como neste estudo. A FIGURA 27 mostra o aspecto dos produtos em diferentes condições de extrusão, sob o mesmo espaço delimitado para efeito de comparação.



FIGURA 27 - EXTRUSADOS DE PINHÃO OBTIDOS SOB DIFERENTES TRATAMENTOS



Observa-se na FIGURA 27, que os maiores IE foram os apresentados nos tratamentos 03, 07 e 12, cujas amostras foram obtidas da extrusão do material com menores teores de umidade (15,5, 15,5 e 14,0 g.100g<sup>-1</sup>, respectivamente). Com maior teor de umidade, a gelatinização do amido é reduzida e o crescimento de bolhas é retardado, resultando em produtos finais mais densos e menos crocantes (DING et al., 2005), conforme verificado nas amostras 02, 04, 06, 08 e 13.

Sob baixos teores de umidade, os extrusados apresentaram aumento de IE com a elevação da rotação. Diferentemente, a temperatura ocasionou uma relação inversamente proporcional ao IE, ou seja, sob baixos teores de umidade, quanto menor a temperatura do processamento, maior foi o IE dos extrusados, conforme observado nas superfícies de resposta nas FIGURAS 28 e 29.

FIGURA 28 - EFEITO DA VARIAÇÃO DE UMIDADE, ROTAÇÃO E TEMPERATURA DE EXTRUSÃO DAS AMOSTRAS SOBRE O ÍNDICE DE EXPANSÃO SECCIONAL (IES) DOS EXTRUSADOS DE PINHÃO

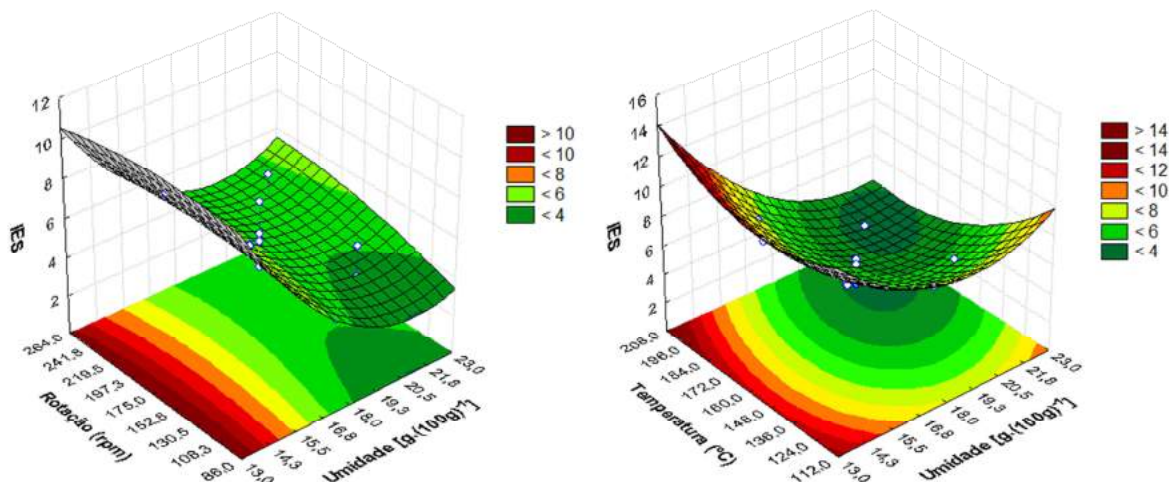
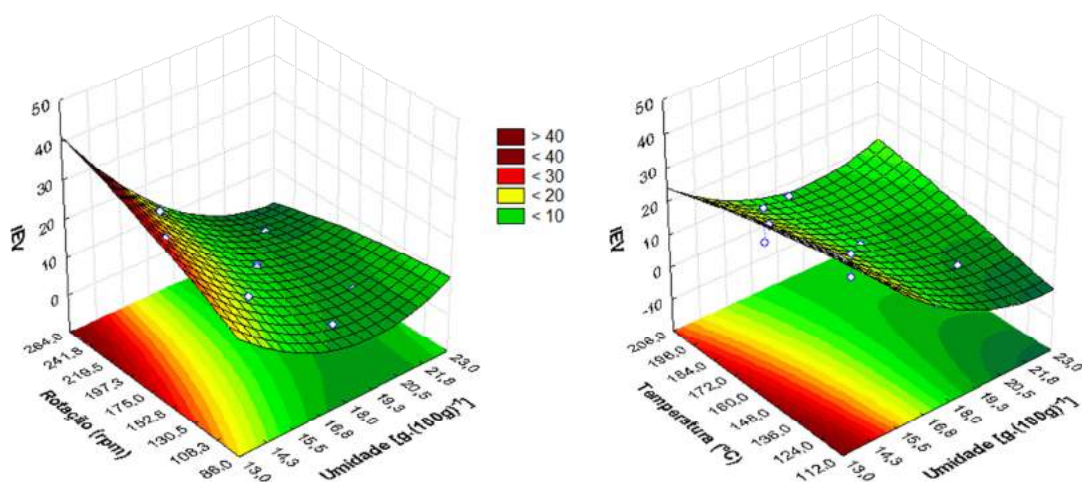


FIGURA 29 - EFEITO DA VARIAÇÃO DE UMIDADE, ROTAÇÃO E TEMPERATURA DE EXTRUSÃO DAS AMOSTRAS SOBRE O ÍNDICE DE EXPANSÃO VOLUMÉTRICA (IEV) DOS EXTRUSADOS DE PINHÃO



Ainda que os fatores umidade, rotação e temperatura influenciem de forma significativa ou não a expansão de extrusados de pinhão, e que alguns possuam maior expansão que outros, em todos os tratamentos a obtenção de extrusados expandidos foi possível devido a significativa presença de amido.

Conforme Arêas (1996), dentre as interações de importância do amido no processo de extrusão estão as interações eletrostáticas do tipo ligações hidrogeniônicas que ocorrem entre as hidroxilas expostas na parte externa das estruturas em hélice formada pelas macromoléculas de amilose e amilopectina. Essas interações são responsáveis pelas propriedades viscoelásticas do material e formação da rede tridimensional que confere estrutura ao produto.

Segundo Colonna, Buleon e Mercier (1987), Della Valle et al. (1997) e Thomas e Atwell (1997), a amilose é normalmente responsável pela resistência física da massa, uma vez que melhora a leveza, elasticidade, regularidade da superfície e textura, em contraste da amilopectina que, por formar uma rede que aumenta a viscosidade com o amido gelatinizado, acarreta dureza e perda do poder de expansão nos produtos extrusados. Mesmo assim, embora o conteúdo médio de amilose presente no pinhão (22%) seja menor que no milho (28,3%), que é a matéria-prima mais comum na produção de extrusados, com este trabalho foi possível realizar a obtenção de extrusados de pinhão com IE satisfatórios.

#### 4.3.4 Propriedades mecânicas

Um extrusado expandido corresponde a um material poroso, cujos espaços vazios são denominados células de ar. A distribuição do tamanho destas células, sua organização e espessura da parede celular determinam as propriedades mecânicas e sensoriais dos extrusados (BOUVIER; BONNEVILLE; GOULLIEUX, 1997). Os resultados dessas propriedades mecânicas: frequência de rupturas estruturais ( $N_{sr}$ ), força específica de rupturas estruturais ( $F_{sr}$ ), força de compressão ( $F_c$ ) e o trabalho de crocância ( $W_c$ ), estão apresentados na TABELA 21.

TABELA 21 - RESULTADOS DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS EXTRUSADOS OBTIDOS

Tratamento	Variáveis independentes			Variáveis dependentes			
	X1	X2	X3	$N_{sr}$ (mm <sup>-1</sup> )	$F_{sr}$ (N)	$F_c$ (N)	$W_c$ (N.mm)
01	15,5	130	136	11,37±1,32	3,49±0,65	29,67±4,17	2,65±0,53
02	20,5	130	136	9,75±1,71	8,94±2,24	24,49±7,06	2,60±0,93
03	15,5	220	136	11,71±1,33	2,56±0,58	25,33±3,16	2,19±0,40
04	20,5	220	136	11,16±1,50	6,89±1,42	23,92±6,62	2,14±0,55
05	15,5	130	184	11,35±1,38	3,67±0,74	20,27±3,97	1,82±0,46
06	20,5	130	184	9,25±1,08	7,47±2,03	42,29±9,27	4,68±1,31
07	15,5	220	184	12,01±1,56	2,16±0,39	21,20±4,04	1,81±0,50
08	20,5	220	184	9,53±1,02	7,00±1,02	35,24±9,64	3,69±0,97
09	18,0	175	160	9,99±1,43	4,35±1,30	27,91±5,10	2,89±0,85
10	18,0	175	160	11,12±0,98	5,27±1,50	27,49±8,30	2,50±0,83
11	18,0	175	160	11,06±1,51	3,85±0,82	24,74±3,24	2,30±0,54
12	14,0	175	160	10,00±1,01	2,16±0,43	22,70±3,57	2,31±0,51
13	22,0	175	160	8,14±1,21	10,05±2,16	43,23±10,52	5,40±1,49
14	18,0	100	160	9,67±1,14	5,98±1,61	32,07±8,09	3,41±1,09
15	18,0	250	160	10,74±1,53	3,92±1,34	25,19±6,79	2,46±1,04
16	18,0	175	120	11,94±1,41	6,06±1,72	23,79±7,34	2,04±0,73
17	18,0	175	200	8,91±0,95	4,31±1,01	29,42±5,99	3,38±0,95

X1, umidade; X2, velocidade de rotação; X3, temperatura;  $N_{sr}$ , frequência de rupturas estruturais;  $F_{sr}$ , força de rupturas estruturais;  $F_c$ , força de compressão;  $W_c$ , trabalho de crocância.

Os valores de frequência de rupturas estruturais, correspondentes à crocância e calculados como  $N_{sr}$ , variaram de 8,14 a 12,01  $\text{mm}^{-1}$  e, de acordo com o modelo total ajustado com principais efeitos lineares e quadráticos, apresentado na TABELA 22, na faixa experimental adotada, nenhum dos fatores analisados foi significativo ao nível de 5% de significância.

A força de rupturas estruturais ( $F_{sr}$ ) é uma medida da resistência dessa parede celular, é correspondente à dureza, ou seja, à máxima força para quebrar os extrusados. Nesse caso, a  $F_{sr}$  de extrusados formulados com pinhão variou entre 2,16 a 10,05 N (TABELA 21) com efeito significativo da umidade (TABELA 22).

A menor  $N_{sr}$  foi obtida com o tratamento 13, cujo teor de umidade foi o mais elevado (22  $\text{g.100g}^{-1}$ ). O mesmo foi correspondente ao maior valor de  $F_{sr}$  (10,05 N).

A força de compressão ( $F_c$ ) calculada variou de 20,27 a 43,3 N e o trabalho de crocância ( $W_c$ ) de 1,81 a 5,40, conforme os resultados apresentados na TABELA 21. Não obstante houve diferença significativa no trabalho de crocância dos extrusados, que foram maiores nos tratamentos 06 e 13. Em ambas as propriedades o modelo de regressão foi significativo sendo observados efeitos da umidade bem como da interação da umidade com a temperatura sobre essas características (TABELA 22).

TABELA 22 - COEFICIENTES DE REGRESSÃO ESTIMADOS PARA AS PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS EXTRUSADOS OBTIDOS (MODELO  $Y_K = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3$ )

Coeficientes	Variáveis dependentes			
	$N_{sr}$	$F_{sr}$	$F_c$	$W_c$
$\beta_0$ (intercepto)	<b>10,6622*</b>	<b>4,5031*</b>	<b>26,8269*</b>	<b>2,5938*</b>
$\beta_1$ (U)	-0,7255	<b>2,3196*</b>	<b>4,6857*</b>	<b>0,7210*</b>
$\beta_2$ (R)	0,3296	-0,6164	-1,6552	-0,2567
$\beta_3$ (T)	-0,5075	-0,3323	1,8344	0,3412
$\beta_{11}$ ( $U^2$ )	-0,3804	0,5272	1,8194	0,3457
$\beta_{22}$ ( $R^2$ )	0,0209	0,1192	0,2857	0,0197
$\beta_{33}$ ( $T^2$ )	0,0976	0,2023	-0,4292	-0,0607
$\beta_{12}$ ( $U \cdot R$ )	-	-0,0095	-0,5266	-0,1220
$\beta_{13}$ ( $U \cdot T$ )	-	-0,1448	<b>5,3306*</b>	<b>0,6053*</b>
$\beta_{23}$ ( $R \cdot T$ )	-	0,1248	-0,1514	-0,0095
$R^2$	0,6933	0,9754	0,9244	0,9035
CV	3,8955	1,2215	0,8291	1,1249
P-valor (lack-of-fit)	0,4192	0,8206	0,2519	0,2663

$N_{sr}$ , frequência de rupturas estruturais;  $F_{sr}$ , força de rupturas estruturais;  $F_c$ , força de compressão;  $W_c$ , trabalho de crocância;  $\beta_1$  (U), umidade (linear);  $\beta_2$  (R), rotação (linear);  $\beta_3$  (T), temperatura (linear);  $\beta_{11}$  ( $U^2$ ), umidade (quadrático);  $\beta_{22}$  ( $R^2$ ), rotação (quadrático);  $\beta_{33}$  ( $T^2$ ), temperatura (quadrático);  $R^2$ , coeficiente de determinação; CV (%), coeficiente de variação em porcentagem.

\*  $p < 0,05$ .

Bem como encontrado nos resultados do trabalho de Jozinovic et al. (2012) com o desenvolvimento de extrusados de milho, a umidade foi o fator que afetou a textura dos produtos. Tratamentos com menor teor de umidade tendem a produzir extrusados mais crocantes e com menor dureza, ou seja, com maiores valores de  $N_{sr}$  e menores valores de  $F_{sr}$ .

Conforme observado por Bouvier, Bonneville e Goullieux (1997), a crocância corresponde à fragilidade, ou seja, à facilidade de ruptura dada pelo rearranjo das células formadoras do produto. A propriedade de colapsar estas estruturas e dar a característica crocante ao produto depende especialmente da espessura das paredes das células, do tamanho, da distribuição destas associadas aos efeitos sonoros. Neste trabalho observou-se que a força de rupturas estruturais foi menor durante a penetração para os tratamentos com menor umidade devido à formação de maior quantidade de células, porém, células de menor tamanho, e com isso, maior fraqueza de textura da parede celular o que gera maior crocância.

As superfícies de respostas, FIGURAS 30, 31 e 32, mostram que a crocância dos extrusados de pinhão aumenta sob baixos teores de umidade e temperatura, e maior rotação; já a força de ruptura estrutural aumenta sob elevados teores de umidade e baixas rotação e temperatura; a força de compressão e o trabalho de crocância se comportam da mesma forma, aumentam com o aumento da umidade e temperatura e baixa rotação.

FIGURA 30 - EFEITO DA VARIAÇÃO DE UMIDADE, ROTAÇÃO E TEMPERATURA DE EXTRUSÃO DAS AMOSTRAS SOBRE A FORÇA DE RUPTURA ESTRUTURAL DOS EXTRUSADOS DE PINHÃO

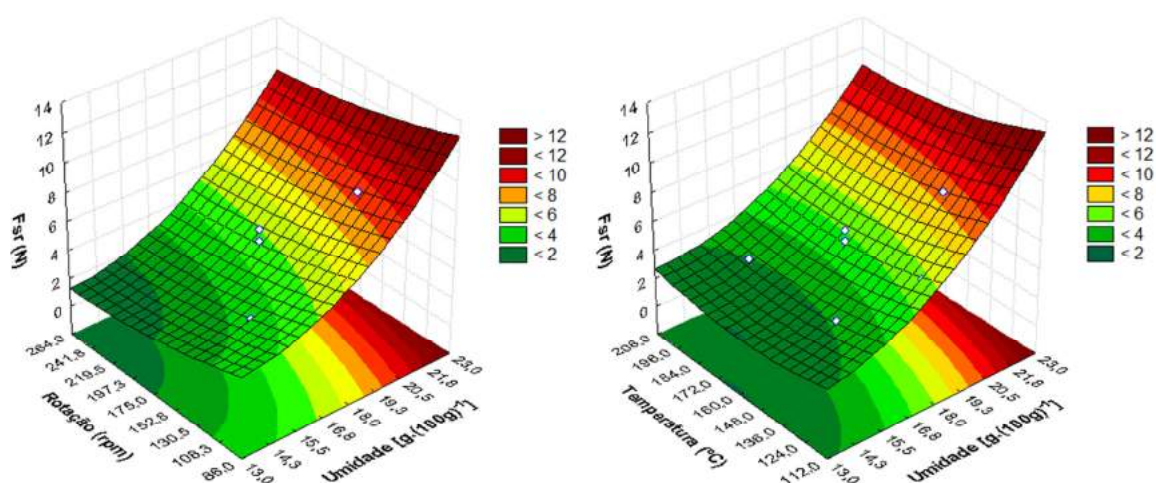




FIGURA 31 - EFEITO DA VARIAÇÃO DE UMIDADE, ROTAÇÃO E TEMPERATURA DE EXTRUSÃO DAS AMOSTRAS SOBRE A FORÇA DE COMPRESSÃO SOBRE OS EXTRUSADOS DE PINHÃO

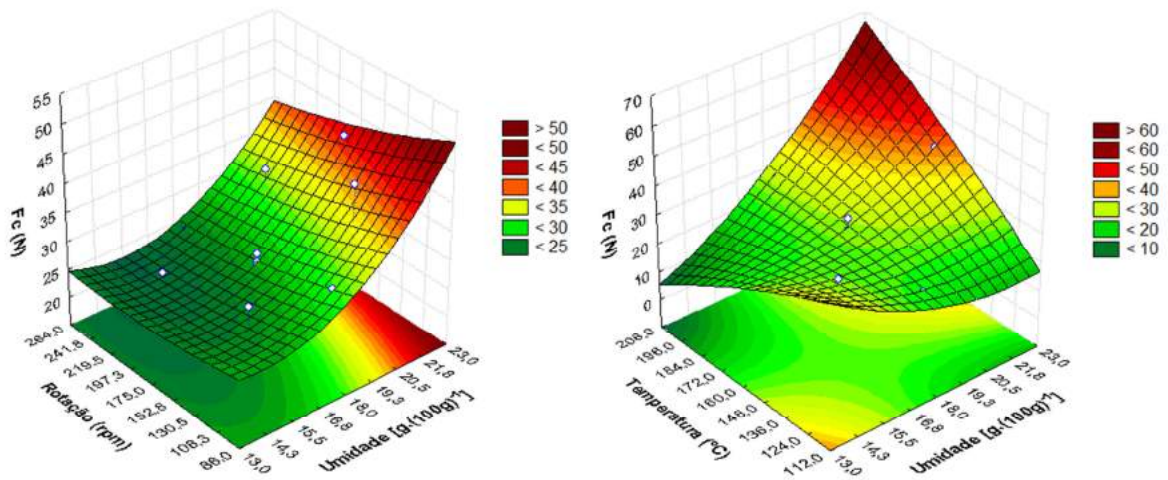
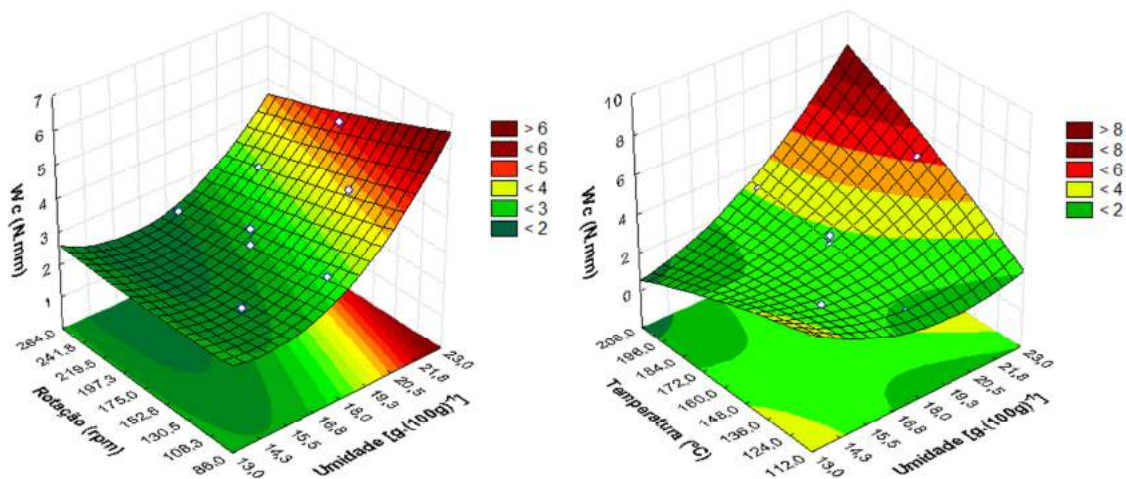


FIGURA 32 - EFEITO DA VARIAÇÃO DE UMIDADE, ROTAÇÃO E TEMPERATURA DE EXTRUSÃO DAS AMOSTRAS SOBRE O TRABALHO DE COMPRESSÃO SOBRE OS EXTRUSADOS DE PINHÃO



#### 4.3.5 Análise de cor

A cor é uma característica considerável de qualidade relacionada diretamente à aceitação do consumidor. A mesma, em produtos extrusados, pode ser influenciada por fatores tais como: temperatura, composição da matéria-prima, tempo de residência, pressão e força de cisalhamento, várias reações que podem acontecer, como escurecimento não enzimático (reações de Maillard e caramelização) e degradação do pigmento, além de ser usada para quantificar o efeito do cozimento na extrusão (MERCIER, LINKO; HARPER, 1998; ILO; LIU;

BERGHOFER, 1999; GUY, 2001; NASCIMENTO et al., 2012). A TABELA 23 mostra os valores obtidos para a análise de cor dos extrusados obtidos.

TABELA 23 - RESULTADO DA ANÁLISE DE COR DOS EXTRUSADOS OBTIDOS

Tratamento	Variáveis independentes			Variáveis dependentes			
	X1	X2	X3	L	a*	b*	$\Delta E$
01	15,5	130	136	16,01 $\pm$ 0,31	4,04 $\pm$ 0,09	12,18 $\pm$ 0,98	9,49 $\pm$ 0,78
02	20,5	130	136	18,92 $\pm$ 0,09	1,57 $\pm$ 0,14	7,70 $\pm$ 0,51	4,27 $\pm$ 0,24
03	15,5	220	136	15,71 $\pm$ 0,14	4,16 $\pm$ 0,17	12,56 $\pm$ 1,14	9,99 $\pm$ 0,68
04	20,5	220	136	19,51 $\pm$ 0,15	1,96 $\pm$ 0,09	8,62 $\pm$ 0,61	4,19 $\pm$ 0,39
05	15,5	130	184	17,93 $\pm$ 0,23	2,49 $\pm$ 0,08	10,14 $\pm$ 0,99	6,43 $\pm$ 0,65
06	20,5	130	184	19,26 $\pm$ 0,42	1,86 $\pm$ 0,03	8,50 $\pm$ 0,84	4,32 $\pm$ 0,78
07	15,5	220	184	16,62 $\pm$ 0,52	3,57 $\pm$ 0,06	11,74 $\pm$ 0,97	8,63 $\pm$ 0,97
08	20,5	220	184	19,52 $\pm$ 0,50	1,97 $\pm$ 0,44	8,94 $\pm$ 0,65	4,36 $\pm$ 0,76
09	18	175	160	16,74 $\pm$ 0,21	3,88 $\pm$ 0,19	11,17 $\pm$ 0,71	8,29 $\pm$ 0,59
10	18	175	160	18,12 $\pm$ 0,32	2,82 $\pm$ 0,30	10,43 $\pm$ 0,86	6,53 $\pm$ 0,51
11	18	175	160	17,23 $\pm$ 0,55	2,87 $\pm$ 0,07	11,27 $\pm$ 0,86	7,71 $\pm$ 0,91
12	14	175	160	16,05 $\pm$ 0,45	3,99 $\pm$ 0,31	11,48 $\pm$ 1,05	9,39 $\pm$ 0,94
13	22	175	160	19,08 $\pm$ 0,83	1,75 $\pm$ 0,13	8,24 $\pm$ 0,75	4,34 $\pm$ 1,03
14	18	100	160	17,40 $\pm$ 0,31	3,11 $\pm$ 0,06	10,44 $\pm$ 0,86	7,15 $\pm$ 0,72
15	18	250	160	17,83 $\pm$ 0,14	2,84 $\pm$ 0,09	11,00 $\pm$ 0,77	7,09 $\pm$ 0,56
16	18	175	120	16,86 $\pm$ 0,32	3,34 $\pm$ 0,28	11,07 $\pm$ 0,84	7,99 $\pm$ 0,66
17	18	175	200	18,94 $\pm$ 0,81	2,46 $\pm$ 0,15	10,18 $\pm$ 0,61	5,67 $\pm$ 0,90

X1, umidade; X2, velocidade de rotação; X3, temperatura; L, luminosidade; a\*, cromaticidade verde/vermelho; b\*, cromaticidade amarelo/azul;  $\Delta E$ , diferença total de cor.

A luminosidade das amostras extrusadas variou de 15,71 a 19,52 (TABELA 23), enquanto que a cromaticidade verde/vermelho a\*, variou de 1,57 a 4,16 e cromaticidade amarelo/azul b\* variou de 7,70 a 12,56, indicando que além de apresentar um certo brilho as amostras apresentaram maior tendência para a cor amarela. Conforme estes três parâmetros de coloração analisados, os três modelos da regressão adotados foram significativos ( $p < 0,05$ ) nas condições experimentais. Dentre os fatores que compõem os modelos, a umidade afetou significativamente os parâmetros L, a\* e b\*, ao passo que para os fatores rotação da rosca e temperatura não se observou efeito significativo sobre os mesmos (TABELA 24), sendo que, quanto maior a umidade, maior a luminosidade e menores valores de a\* e b\* (TABELA 23).

A diferença total de cor ( $\Delta E$ ) variou de 4,27 a 9,99, sendo somente a umidade também o fator estatisticamente significativo e inversamente proporcional a este parâmetro analisado. Nascimento et al. (2012), em seus estudos com extrusados de milho utilizando óleo de gergelim, encontraram uma variação em  $\Delta E$  de 3,52 a 8,35, semelhante aos valores encontrados neste trabalho.

TABELA 24 - COEFICIENTES DE REGRESSÃO ESTIMADOS PARA AS PROPRIEDADES DE COR DOS EXTRUSADOS OBTIDOS (MODELO  $Y_K = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3$ )

Coeficientes	Variáveis dependentes			
	L*	a*	b*	$\Delta E$
$\beta_0$ (intercepto)	<b>17,3514*</b>	<b>3,2027*</b>	<b>10,9784*</b>	<b>7,5390*</b>
$\beta_1$ (U)	<b>1,1746*</b>	<b>-0,7795*</b>	<b>-1,3411*</b>	<b>-1,8968*</b>
$\beta_2$ (R)	-0,0022	0,0910	0,3122	0,1873
$\beta_3$ (T)	0,4895	-0,2438	-0,2375	-0,5944
$\beta_{11}$ (U <sup>2</sup> )	0,1187	-0,1570	-0,4593	-0,3264
$\beta_{22}$ (R <sup>2</sup> )	0,1370	-0,1187	-0,1552	-0,2364
$\beta_{33}$ (T <sup>2</sup> )	-0,2378	-0,1453	-0,1888	-0,3388
$\beta_{12}$ (U*R)	0,3075	-0,0871	-0,0792	-0,3442
$\beta_{13}$ (U*T)	-0,3100	0,3046	0,4975	0,5813
$\beta_{23}$ (R*T)	-0,1667	0,0846	0,0942	0,2283
R <sup>2</sup>	0,9167	0,8796	0,9200	0,9303
CV	3,6554	5,9254	1,2486	2,4659
P-valor ( <i>lack-of-fit</i> )	0,7638	0,8162	0,3457	0,6645

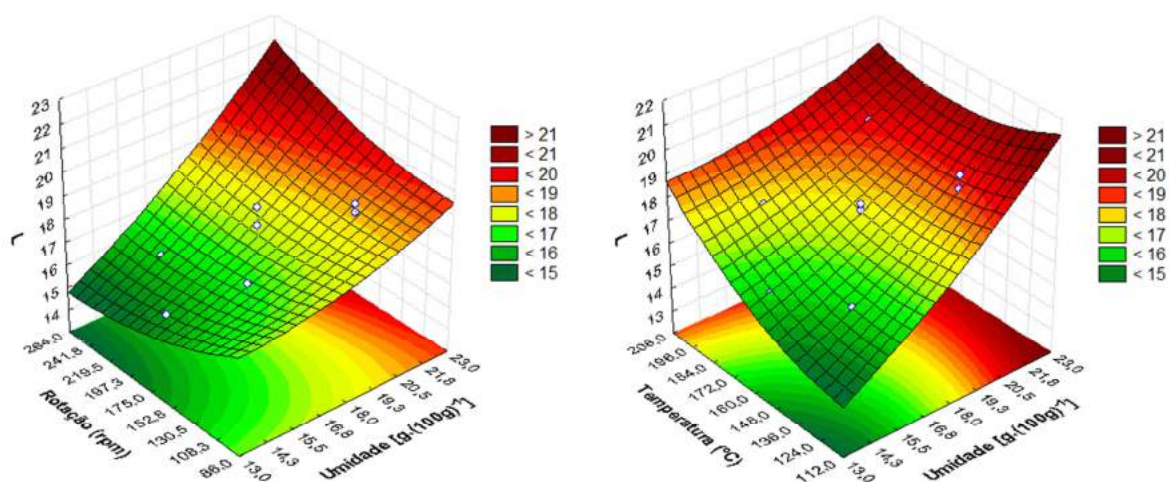
L, luminosidade; a\*, cromaticidade verde/vermelho; b\*, cromaticidade amarelo/azul;  $\Delta E$ , diferença total de cor;  $\beta_1$  (U), umidade (linear);  $\beta_2$  (R), rotação (linear);  $\beta_3$  (T), temperatura (linear);  $\beta_{11}$  (U<sup>2</sup>), umidade (quadrático);  $\beta_{22}$  (R<sup>2</sup>), rotação (quadrático);  $\beta_{33}$  (T<sup>2</sup>), temperatura (quadrático); R<sup>2</sup>, coeficiente de determinação; CV (%), coeficiente de variação em porcentagem.

\* p<0,05.

Os extrusados de menor luminosidade foram obtidos sob condições de baixa umidade e alta rotação, bem como nos resultados encontrados no trabalho de Leonel, Souza e Mischon (2010) com extrusados à base de polvilho doce e fibra de laranja. Ilo e Berghofer (1999) estudando produtos extrusados à base de milho e Borba, Sarmento e Leonel (2005), extrusados de batata doce, também obtiveram efeito significativo da umidade para estes três parâmetros de coloração (L, a\* e b\*). Em um trabalho desenvolvido com extrusados de mandioca, Badrie e Mellows (1991) afirmaram que altos níveis de umidade no processo de extrusão resultam em produtos mais claros, uma vez que a umidade elevada reduz o tempo de residência da massa, proporcionando menor ocorrência de caramelização e reação de Maillard. Os gráficos de superfície de resposta da luminosidade (FIGURA 33) retratam que em baixas condições de umidade e temperatura aplicadas foram evidenciados a influência das condições severas de processamento e consequente escurecimento dos mesmos.



FIGURA 33 - EFEITO DA VARIAÇÃO DE UMIDADE, ROTAÇÃO E TEMPERATURA DE EXTRUSÃO DAS AMOSTRAS SOBRE A LUMINOSIDADE DOS EXTRUSADOS DE PINHÃO



Os menores valores de  $a^*$  e  $b^*$  foram observados nas condições de alta umidade (FIGURAS 34 e 35), resultados estes bastante semelhantes aos encontrados nos trabalhos de Leonel, Souza e Mischon (2010) e Trombini, Leonel e Mischon (2013), com extrusados de farinha de soja e fécula e farelo de mandioca, respectivamente, e em Borba, Sarmento e Leonel (2005) com extrusados de batata doce, cujos resultados mostraram que com o aumento da umidade da matéria-prima (até 21-22%) os componentes  $a^*$  e  $b^*$  também foram reduzidos.

FIGURA 34 - EFEITO DA VARIAÇÃO DE UMIDADE, ROTAÇÃO E TEMPERATURA DE EXTRUSÃO DAS AMOSTRAS SOBRE O CROMA  $a^*$  DOS EXTRUSADOS DE PINHÃO

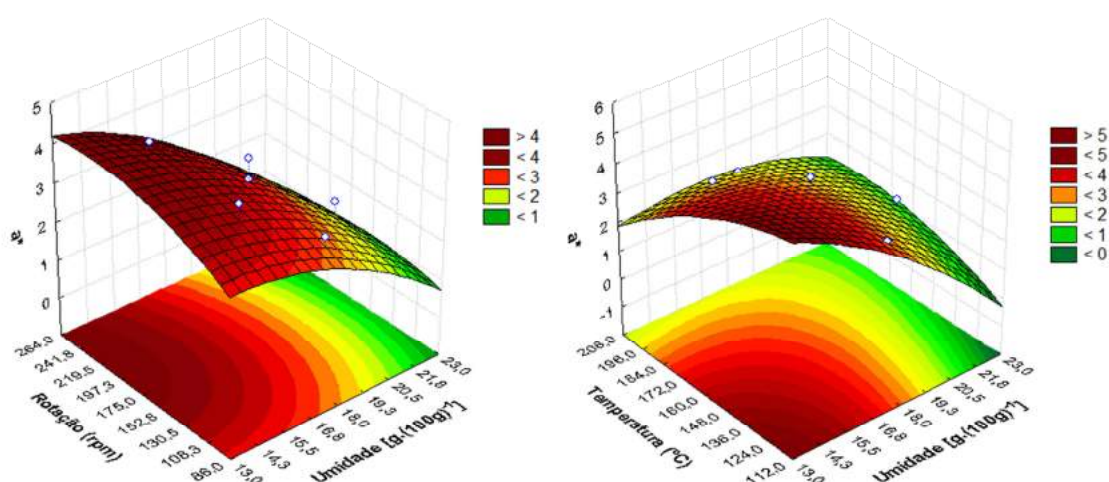
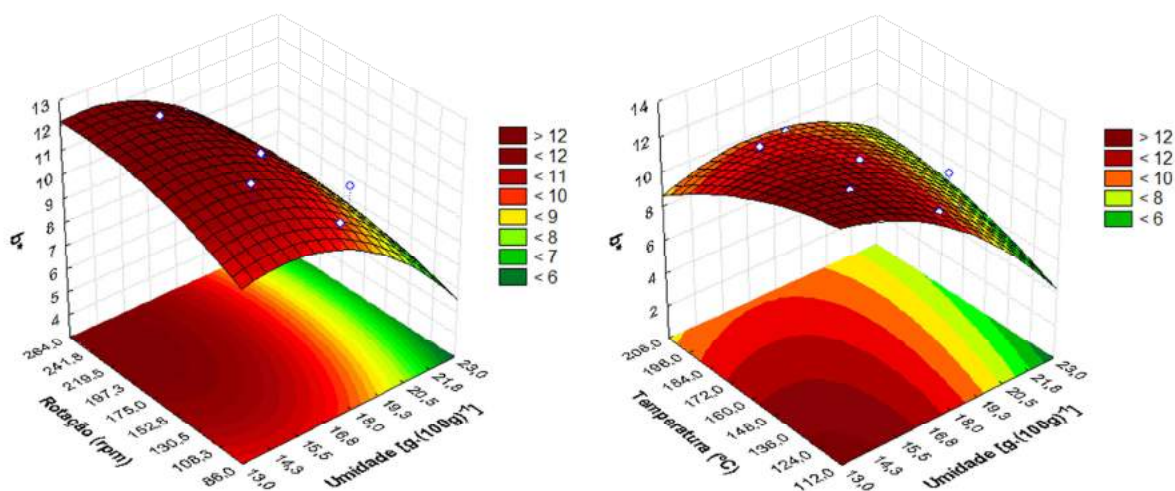
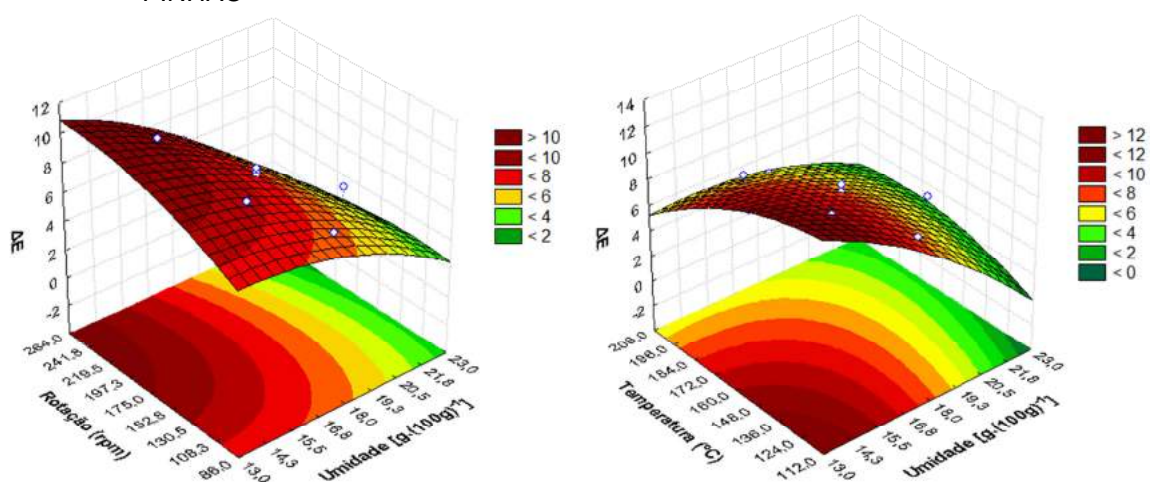


FIGURA 35 - EFEITO DA VARIAÇÃO DE UMIDADE, ROTAÇÃO E TEMPERATURA DE EXTRUSÃO DAS AMOSTRAS SOBRE O CROMA  $b^*$  DOS EXTRUSADOS DE PINHÃO



A FIGURA 36 mostra que a variação em  $\Delta E$  aumenta com menores teores de umidade e temperatura, e maior rotação.

FIGURA 36 - EFEITO DA VARIAÇÃO DE UMIDADE, ROTAÇÃO E TEMPERATURA DE EXTRUSÃO DAS AMOSTRAS SOBRE A DIFERENÇA TOTAL DE COR DOS EXTRUSADOS DE PINHÃO



#### 4.3.6 Análises de atividade de água ( $A_w$ ) e dos índices de absorção em água (IAA) e de solubilidade em água (ISA)

Os valores obtidos para as análises de atividade de água ( $A_w$ ) e índices de absorção em água (IAA) e solubilidade em água (ISA) dos extrusados de pinhão estão apresentados na TABELA 25.

TABELA 25 - RESULTADOS DAS ANÁLISES DE ATIVIDADE DE ÁGUA E ÍNDICES DE ABSORÇÃO E SOLUBILIDADE EM ÁGUA DOS EXTRUSADOS OBTIDOS

Tratamento	Variáveis independentes			Variáveis dependentes		
	X1	X2	X3	Aw	IAA (g.g <sup>-1</sup> )	ISA (%)
01	15,5	130	136	0,440±0,021	5,482±0,231	6,645±0,157
02	20,5	130	136	0,438±0,018	5,713±0,014	4,744±0,694
03	15,5	220	136	0,474±0,003	5,464±0,043	8,686±0,529
04	20,5	220	136	0,418±0,030	4,917±0,226	10,386±0,338
05	15,5	130	184	0,422±0,075	5,397±0,064	8,609±0,544
06	20,5	130	184	0,448±0,025	6,104±0,046	1,967±0,094
07	15,5	220	184	0,508±0,007	5,323±0,136	12,648±1,758
08	20,5	220	184	0,447±0,017	5,639±0,176	6,396±1,237
09	18	175	160	0,447±0,010	5,081±0,087	11,646±0,115
10	18	175	160	0,462±0,051	5,327±0,095	8,704±0,462
11	18	175	160	0,455±0,010	5,549±0,043	6,710±1,314
12	14	175	160	0,426±0,041	5,627±0,083	6,650±0,308
13	22	175	160	0,466±0,016	5,217±0,260	9,373±0,481
14	18	100	160	0,476±0,031	6,064±0,029	4,295±0,361
15	18	250	160	0,463±0,020	5,204±0,101	10,454±0,824
16	18	175	120	0,442±0,014	5,399±0,078	10,305±0,105
17	18	175	200	0,516±0,029	5,214±0,162	8,650±0,044

X1, umidade; X2, velocidade de rotação; X3, temperatura; Aw, atividade de água; IAA, índice de absorção em água; ISA, índice de solubilidade em água.

A Aw do pinhão *in natura* foi de  $0,90 \pm 0,02$  e da farinha  $0,544 \pm 0,029$ , correspondendo a valores maiores que os determinados nos extrusados (TABELA 25).

De acordo com os dados apresentados na TABELA 25, a Aw dos extrusados tiveram valores bastante próximos, variando apenas de 0,418 a 0,516. Para extrusados, se o produto for embalado de modo a manter a Aw entre 0,30 e 0,60 constante durante todo o processo de armazenamento a condição é considerada ideal sob o ponto de vista microbiológico e favorável para o aumento da vida-de-prateleira desse tipo de alimento, uma vez que, valores abaixo de 0,60 são limitantes para a multiplicação microbiana; e superiores a 0,30 evitam condições susceptíveis à oxidação de lipídios (BARBUTI; PAROLARI, 2000; SARANTÓPOULOS; OLIVEIRA; CANAVES, 2001; AZEREDO; BRITO; GARRUTI, 2004).

Correspondente a uma variação de 4,917 a 6,104 g.g<sup>-1</sup> o IAA depende da disponibilidade dos grupos hidrofílicos e da capacidade de formação de gel das macromoléculas de amido (GUHA; ALI; BHATTACHARYA, 1998). Os valores de IAA obtidos para extrusados de pinhão foram próximos aos valores reportados por Silva et al. (2013) para extrusados à base de milho, que variam de 4,35 a 6,06 g gel/g matéria seca.

O ISA, que avalia a quantidade de sólidos solúveis e permite verificar o grau de severidade do tratamento, em função da quebra, degradação e consequente solubilização do amido (GUERREIRO, 2007), apresentou variação de 1,967 a 12,648%.

Na faixa experimental adotada não foi possível obter equações que predissessem tanto a  $A_w$  quanto o IAA em um intervalo de confiança a 95%. Já para o ISA, mesmo o modelo sendo válido, nenhum dos fatores analisados apresentou significância a um nível estatístico de 5%.

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, a  $A_w$  tenderia a aumentar sob altas condições de temperatura ou sob condições da interação oposta da umidade e rotação.

Os maiores valores de IAA nos extrusados de pinhão foram obtidos sob condições de baixa rotação, o que também pode ser observado nos estudos de Guha, Ali e Bhattacharya (1997), com extrusados de farinha de arroz. A baixa velocidade permite menor cisalhamento, o que provoca mais cadeias de polímeros não danificadas e uma maior disponibilidade de grupos hidrofílicos, resultando em maior IAA (GOMEZ e AGUILERA, 1983).

Os resultados mostraram que o ISA tende a aumentar com a severidade do tratamento, isto é, quanto maior for a rotação de operação durante o processo de extrusão, maior será a taxa de cisalhamento, e consequentemente, maior o ISA. De modo contrário, a amostra obtida pelo tratamento 06, cujos valores da umidade e temperatura foram elevados, porém, a rotação foi baixa, foi a que apresentou menor ISA (1,967%). Dogan e Karwe (2003) discutem que maiores velocidades de rotação ou temperatura, e baixa umidade, geram maior energia térmica e mecânica, o que favorece a quebra molecular do amido, ou seja, provoca maior degradação e, por conseguinte, aumenta o ISA.

#### 4.3.7 Digestibilidade *in vitro* dos extrusados de pinhão

O valor médio de amido total para os extrusados de pinhão foi de  $76,89 \pm 1,06\%$  (b.s.). O teor de amido resistente (AR) presente nas amostras foi considerado irrelevante. Os valores de amido rapidamente digerido (ARD) e lentamente digerido (ALD) presentes nos extrusados de pinhão, calculados como uma percentagem do total de amido presente nas amostras estão apresentados na TABELA 26.

TABELA 26 - CONTEÚDO DE ARD, ALD E AR NOS EXTRUSADOS DE PINHÃO

Tratamento	Variáveis independentes			Variáveis dependentes	
	X1	X2	X3	ARD (%)	ALD (%)
01	15,5	130	136	94,75±1,57	5,25±0,93
02	20,5	130	136	89,39±1,39	10,61±1,33
03	15,5	220	136	94,67±3,96	5,33±3,12
04	20,5	220	136	92,71±0,61	7,29±3,97
05	15,5	130	184	90,89±0,28	9,11±3,30
06	20,5	130	184	94,39±3,23	5,61±3,32
07	15,5	220	184	94,27±1,15	5,73±0,12
08	20,5	220	184	91,69±1,55	8,31±3,13
09	18	175	160	95,68±1,74	4,32±0,97
10	18	175	160	97,88±1,87	2,12±0,13
11	18	175	160	94,83±2,76	5,17±1,09
12	14	175	160	97,88±0,23	2,12±0,79
13	22	175	160	94,77±1,73	5,23±0,25
14	18	100	160	90,32±0,39	9,68±0,82
15	18	250	160	96,05±0,29	3,95±1,78
16	18	175	120	92,74±4,42	7,26±1,74
17	18	175	200	95,59±0,23	4,41±2,72

X1, umidade; X2, velocidade de rotação; X3, temperatura; ARD, amido rapidamente digerido; ALD, amido lentamente digerido.

O elevado conteúdo de ARD em todas as amostras extrusadas é atribuído à perda de integridade estrutural dos grânulos de amido devido à ação de cisalhamento e amassamento durante extrusão que ocasiona elevada suscetibilidade ao ataque enzimático na análise de digestibilidade *in vitro* (ALONSO; AGUIRRE; MARZO, 2000). Em conformidade com os estudos de Sharma, Singh e Singh (2015), com extrusados de milho, ervilha e feijão, os conteúdos de ARD também foram elevados em condições semelhantes de extrusão, enquanto que os teores de AR tornaram-se inexistentes em comparação ao material antes de ser extrusado, conforme apresentado no item 4.1.1 deste trabalho, onde o a matéria-prima a ser extrusada (farinha de pinhão) apresentou 91,82 ± 0,32% de ARD, 1,49 ± 0,28% de ALD e 6,69 ± 0,04% de AR.

Contudo, o conteúdo de ALD aumentou em todos os produtos extrusados, o que se torna favorável no controle dietético de doenças metabólicas, tais como diabetes, por serem lentamente digeridos e absorvidos (ALTAN, McCARTHY, MASKAN, 2009). Os maiores teores de ALD foram encontrados nos extrusados obtidos pelos tratamentos 02, 14 e 05, 10,61, 9,68 e 9,11%, respectivamente, cujas velocidades de rotação do parafuso foram mínimas (130 e 100 rpm). Em estudos com extrusão de sorgo (MAHASUKHONTHACHAT; SOPADE; GIDLEY, 2010), a baixa rotação do parafuso também indicou minimização da digestibilidade do amido em extrusados.

Na faixa experimental adotada não foi possível obter modelos que predissessem os parâmetros de digestibilidade *in vitro* para extrusados de pinhão, em um intervalo de confiança a 95%.

#### 4.3.8 Propriedades viscoamilográficas

Uma vez que modificações estruturais das moléculas de amido e de outros componentes ocorrem com o aquecimento e resfriamento de pastas, as características são medidas através da viscosidade que é considerada uma das principais propriedades de misturas instantâneas (LUSTOSA; LEONEL, 2010).

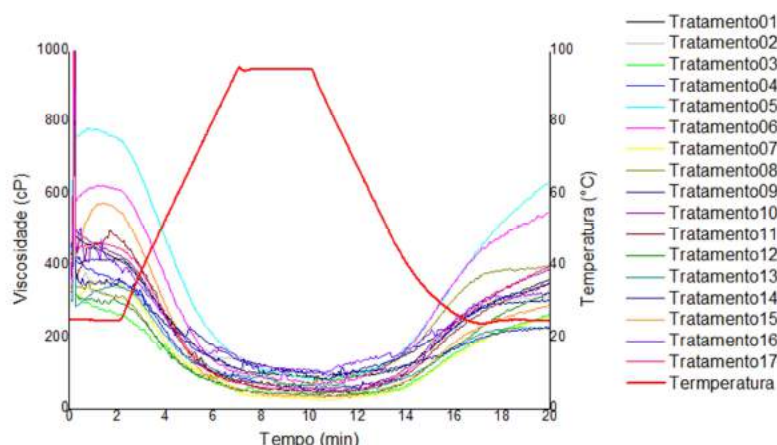
Os resultados da viscosidade das farinhas de extrusados de pinhão obtidas pelos diferentes tratamentos estão mostrados na TABELA 27. O perfil viscoamilográfico de cada farinha está apresentado na FIGURA 37.

TABELA 27 - PROPRIEDADES DE EMPASTAMENTO DAS FARINHAS DE EXTRUSADOS DE PINHÃO (1-17) DETERMINADAS POR VISCOAMILÓGRAFO RVA-4

Tratamento	Variáveis independentes			Variáveis dependentes			
	X1	X2	X3	Pico de viscosidade (cP)	<i>Breakdown</i> (cP)	<i>Setback</i> (cP)	Viscosidade final (cP)
01	15,5	130	136	458,5	374,5	276,0	360,0
02	20,5	130	136	384,5	299,5	230,5	315,5
03	15,5	220	136	299,0	258,5	223,5	264,0
04	20,5	220	136	394,5	343,5	304,0	355,0
05	15,5	130	184	782,0	702,5	553,5	633,0
06	20,5	130	184	625,0	554,0	480,5	551,5
07	15,5	220	184	357,0	333,0	236,5	260,5
08	20,5	220	184	356,0	293,0	337,5	400,5
09	18	175	160	419,0	337,0	223,0	305,0
10	18	175	160	480,0	423,0	337,0	394,0
11	18	175	160	499,0	453,5	307,5	353,0
12	14	175	160	310,5	273,0	288,5	326,0
13	22	175	160	346,5	296,5	179,0	229,0
14	18	100	160	365,5	271,0	135,0	229,5
15	18	250	160	575,0	540,5	254,0	288,5
16	18	175	120	451,0	351,0	229,0	329,0
17	18	175	200	463,0	413,5	349,5	399,0

X1, umidade; X2, velocidade de rotação; X3, temperatura.

FIGURA 37 - PERFIL VISCOAMILOGRÁFICO DAS FARINHAS DE EXTRUSADOS DE PINHÃO

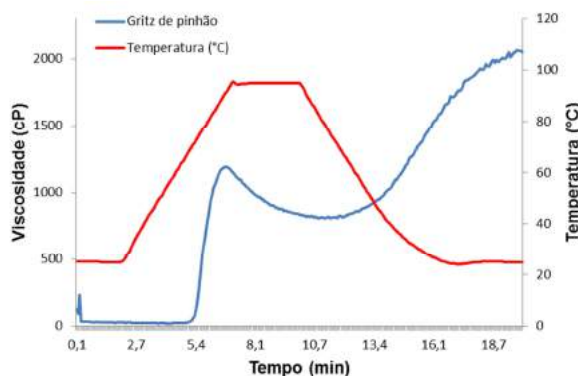


As análises de viscosidade das pastas revelaram as mudanças nas estruturas do amido submetido ao pré-processo de cozimento por extrusão que envolveu calor e cisalhamento (CARVALHO et al., 2010b).

A capacidade das farinhas em suspensão em absorver água a temperatura ambiente (20-25 °C) e formar pasta, gel ou líquido viscoso corresponde à viscosidade a frio (CARVALHO; ASCHERI; CAL-VIDAL, 2002). Na FIGURA 37 pode-se verificar que os picos de viscosidade para todas as farinhas ocorreram a 25 °C sendo que a farinhas obtidas pelos tratamentos 05, 06 e 15 foram as que obtiveram maiores picos de viscosidade, 782,0, 625,0 e 575,0 cP, respectivamente.

A redução rápida da viscosidade, com o aquecimento e agitação durante a análise (FIGURA 37), caracterizou o completo rompimento da estrutura do amido com a extrusão, uma vez que não foram verificados picos na faixa de 60-70 °C como ocorreu com a farinha crua (FIGURA 38), cujos grânulos de amido ainda permaneciam intactos.

FIGURA 38 - PERFIL VISCOAMILOGRÁFICO DA FARINHA DE PINHÃO





A viscosidade a quente, diretamente relacionada à degradação sofrida pelo grânulo de amido, indica as possibilidades de utilização da farinha extrusada, sobretudo se for destinada ao preparo de sopas, alimentos infantis ou outros alimentos cuja viscosidade deve ser conservada em temperaturas acima da ambiente (HAASE; MINTUS; WEIPERT, 1995).

Neste trabalho, devido ao processo de extrusão ocasionar a destruição da estrutura dos grânulos de amido, estes perderam sua capacidade de inchar quando aquecidos em água e ocasionaram baixa viscosidade das pastas a quente (95 °C). Comportamento semelhante foi observado em outros trabalhos com extrusados tais como de Torres et al. (2005) com farinha de banana verde, Lustosa e Leonel (2010) com farinha de mandioca e Nascimento et al. (2012) com mistura de farinha de milho e gergelim. Sob baixas temperatura e rotação o tratamento térmico e mecânico foi menos severo, fornecendo as maiores viscosidades a 95 °C (viscosidade mínima) aos tratamentos 16 e 14, os quais apresentaram 100 e 94,5 cP respectivamente.

A viscosidade final é uma medida da reassociação das macromoléculas constituintes do amido, em que os produtos obtidos por extrusão, dependem das modificações que ocorreram nas estruturas dos grânulos e das moléculas (SHARMA; SINGH; SINGH, 2015). A viscosidade final das farinhas extrusadas de pinhão variou de 229,0 a 633,0 cP.

Os limites adotados nesse trabalho não possibilitaram a obtenção de equações que pudessem prever os parâmetros de viscosidade em um intervalo de confiança a 95% para farinhas de extrusados de pinhão.

#### 4.4 ANÁLISE SENSORIAL

##### 4.4.1 Análise sensorial dos *snacks* sabor natural de pinhão

Os parâmetros de textura de extrusados expandidos são resultados da percepção do ser humano associado com a expansão e a estrutura celular do produto (DING et al., 2005).

Seis amostras de extrusados de pinhão, obtidas por seis diferentes tratamentos, foram previamente selecionadas conforme os parâmetros mais desejados que são o índice de expansão volumétrica (IEV) e a frequência de rupturas estruturais (Nsr), correspondente à crocância, que segundo Anton e



Luciano (2007), são considerados os parâmetros críticos de qualidade em se tratando de produtos obtidos pelo cozimento por extrusão. Em salgadinhos extrusados, a expansão e a crocância são desejados, e é por isso que a textura tem um papel importante a respeito da aceitabilidade de *snacks* entre os consumidores.

Desse modo, os resultados destes parâmetros referenciados para cada tratamento foram comparados pelo teste de comparação de médias de Tukey ao nível de 5% de significância ( $p < 0,05$ ), conforme apresentado na TABELA 28.

TABELA 28 - RESULTADOS DOS PARÂMETROS CONSIDERADOS PARA SELEÇÃO DE AMOSTRAS DE *SNACKS* DE PINHÃO

Tratamento	X1	X2	X3	IEV	N <sub>sr</sub> (mm <sup>-1</sup> )
01	15,5	130	136	16,31±1,01 <sup>d</sup>	11,37±1,32 <sup>ab</sup>
02	20,5	130	136	3,14±0,27 <sup>k</sup>	9,75±1,71 <sup>cdef</sup>
03	15,5	220	136	23,11±2,41 <sup>b</sup>	11,71±1,33 <sup>a</sup>
04	20,5	220	136	4,90±0,28 <sup>j</sup>	11,16±1,50 <sup>abc</sup>
05	15,5	130	184	8,93±0,80 <sup>tg</sup>	11,35±1,38 <sup>ab</sup>
06	20,5	130	184	5,35±0,42 <sup>j</sup>	9,25±1,08 <sup>tg</sup>
07	15,5	220	184	19,36±1,20 <sup>c</sup>	12,01±1,56 <sup>a</sup>
08	20,5	220	184	5,59±0,34 <sup>j</sup>	9,53±1,02 <sup>efg</sup>
09	18,0	175	160	9,10±0,52 <sup>tg</sup>	9,99±1,43 <sup>bcd</sup>
10	18,0	175	160	7,59±0,78 <sup>hi</sup>	11,12±0,98 <sup>abc</sup>
11	18,0	175	160	9,89±0,78 <sup>ef</sup>	11,06±1,51 <sup>abcd</sup>
12	14,0	175	160	28,13±2,49 <sup>a</sup>	10,00±1,01 <sup>bcd</sup>
13	22,0	175	160	4,70±0,35 <sup>j</sup>	8,14±1,21 <sup>g</sup>
14	18,0	100	160	8,00±0,53 <sup>ghi</sup>	9,67±1,14 <sup>def</sup>
15	18,0	250	160	8,24±0,56 <sup>gh</sup>	10,74±1,53 <sup>abcde</sup>
16	18,0	175	120	6,86±0,73 <sup>i</sup>	11,94±1,41 <sup>a</sup>
17	18,0	175	200	10,29±0,67 <sup>e</sup>	8,91±0,95 <sup>tg</sup>

X1, umidade; X2, velocidade de rotação; X3, temperatura; IEV, índice de expansão volumétrica; N<sub>sr</sub>, frequência de rupturas estruturais.

Médias ± dp seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey.

Para a realização dos testes de aceitação e pesquisa de compra dos *snacks* de pinhão algumas considerações foram feitas e as seguintes amostras foram selecionadas conforme tais parâmetros:

- duas amostras de maiores valores de IEV e N<sub>sr</sub>, concomitantemente – amostras obtidas pelos tratamentos 03 e 07 (23,11 ± 2,41 e 11,71 ± 1,33 mm<sup>-1</sup>; 19,36 ± 1,20 e 12,01 ± 1,56 mm<sup>-1</sup>, respectivamente);
- duas amostras de menores valores de IEV e N<sub>sr</sub>, concomitantemente - amostras obtidas pelos tratamentos 06 e 13 (5,35 ± 0,42 e 9,25 ± 1,08 mm<sup>-1</sup>; 4,70 ± 0,35 e 8,14 ± 1,21 mm<sup>-1</sup>, respectivamente);

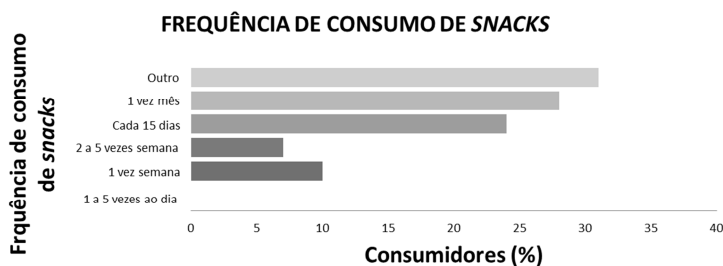
- duas amostras de valores de IEV e Nsr concomitantemente intermediários - amostras obtidas pelos tratamentos 10 e 15 ( $7,59 \pm 0,78$  e  $11,12 \pm 0,98 \text{ mm}^{-1}$ ;  $8,24 \pm 0,56$  e  $10,74 \pm 1,53 \text{ mm}^{-1}$ , respectivamente).

#### 4.4.1.1 Perfil dos consumidores na análise sensorial dos *snacks* sabor natural de pinhão

Para a realização dos testes sensoriais dos *snacks* sabor natural de pinhão participaram 100 consumidores não treinados, sendo destes, 44% mulheres e 56% homens. A faixa etária predominante foi entre 18 e 25 anos (81%), seguida da faixa entre 26 e 35 anos (12%), 36 e 45 anos (3%); e acima de 46 anos (4%). Quanto ao nível de escolaridade, a maior parte dos entrevistados (67%) apresentava nível superior incompleto, enquanto que os demais possuíam pós-graduação (19%), superior completo (9%), segundo grau incompleto (2%) e primário completo (2%).

Mais de 80% dos entrevistados consumidores de pinhão consomem *snacks* de diferentes tipos. A frequência do consumo de *snacks* apresentada por todos os consumidores de pinhão que foram entrevistados foi distribuída em: uma vez ao mês, 28%; a cada 15 dias, 24%; duas a cinco vezes na semana, 7%; e uma vez na semana 10%; enquanto que 31% do total consomem com outra frequência não descrita na ficha (FIGURA 39).

FIGURA 39 - DISTRIBUIÇÃO DA FREQUÊNCIA NO CONSUMO DE *SNACKS* PELOS CONSUMIDORES DA SENSORIAL DOS *SNACKS* SABOR NATURAL DE PINHÃO



#### 4.4.1.2 Teste de aceitação dos *snacks* sabor natural de pinhão

Na análise sensorial de aceitação de *snacks* de pinhão sabor *in natura*, de acordo com os dados apresentados na TABELA 29 todas as amostras analisadas

foram aprovadas pelos consumidores, obtendo médias próximas a 5 e 6 (5=nem gostei/nem desgostei e 6=gostei ligeiramente na escala hedônica de 9 pontos).

TABELA 29 - MÉDIAS OBTIDAS COM O TESTE DE ACEITAÇÃO EM RELAÇÃO À COR, AROMA, SABOR, TEXTURA E ACEITAÇÃO GLOBAL DOS SNACKS DE PINHÃO

AMOSTRA	COR	AROMA	SABOR	TEXTURA	ACEITAÇÃO GLOBAL
03	6,22±1,52 <sup>a</sup>	5,86±1,39 <sup>a</sup>	5,98±1,66 <sup>a</sup>	6,90±1,51 <sup>ab</sup>	6,46±1,39 <sup>a</sup>
06	5,43±1,59 <sup>b</sup>	5,55±1,34 <sup>a</sup>	5,53±1,70 <sup>ab</sup>	5,38±1,73 <sup>c</sup>	5,62±1,40 <sup>bc</sup>
07	6,00±1,44 <sup>ab</sup>	5,83±1,42 <sup>a</sup>	6,11±1,68 <sup>a</sup>	7,12±1,35 <sup>a</sup>	6,46±1,40 <sup>a</sup>
10	5,92±1,45 <sup>ab</sup>	5,82±1,28 <sup>a</sup>	6,01±1,61 <sup>a</sup>	6,53±1,50 <sup>ab</sup>	6,26±1,28 <sup>a</sup>
13	5,52±1,44 <sup>b</sup>	5,48±1,28 <sup>a</sup>	4,92±1,45 <sup>b</sup>	5,05±1,83 <sup>c</sup>	5,26±1,41 <sup>c</sup>
15	5,69±1,42 <sup>ab</sup>	5,64±1,30 <sup>a</sup>	5,66±1,61 <sup>a</sup>	6,36±1,56 <sup>b</sup>	6,03±1,26 <sup>ab</sup>
Famostra	4,19	1,47	7,48	27,50	12,83

Médias ± dp seguidas pela mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com 5% de probabilidade (n=100).

Escala hedônica estruturada de nove pontos, sendo 1=desgostei extremamente e 9=gostei muitíssimo.

Segundo ANOVA desenvolvida, com exceção do aroma, nos demais atributos avaliados (cor, sabor, textura e aceitação global) algumas amostras apresentaram diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre si.

Houve diferença significativa na aceitação da cor dos *snacks* de pinhão. Através dos resultados obtidos, pode-se verificar que para este atributo, tanto a amostra 03 quanto a 07 apresentaram maiores frequência de repostas mais próximas de “gostei ligeiramente”, o que mostra uma tendência a ser a mais aceita quanto ao atributo cor. Segundo as análises instrumentais, estas amostras apresentaram menores valores de L\* que as demais, ou seja, apresentaram uma coloração mais escura.

Não houve diferença significativa no aroma dos *snacks* de pinhão.

Assim como no atributo cor, também no sabor as amostras 03 e 07 (de maiores índice de expansão e crocância) diferiram significativamente das amostras 06 e 13 (de menores índice de expansão e crocância). Segundo NBR 12.806 (ABNT, 1993a), o sabor de um alimento é o resultado da combinação de sensações gustativas, olfativas e táteis: gostos básicos, substância voláteis, calor, ardor, pungência, etc. De forma geral, pode-se verificar que *snacks* de pinhão de menores índices de expansão e crocância tendem a ter sabor menos aceito que *snacks* de pinhão de maiores índices de expansão e crocância.

A textura é definida como todas as propriedades reológicas e estruturais (geométricas e de superfície), podendo ser percebida por receptores mecânicos; por estímulos visual, auditivo e tátil, de forma direta com os dedos, mãos e ainda pela

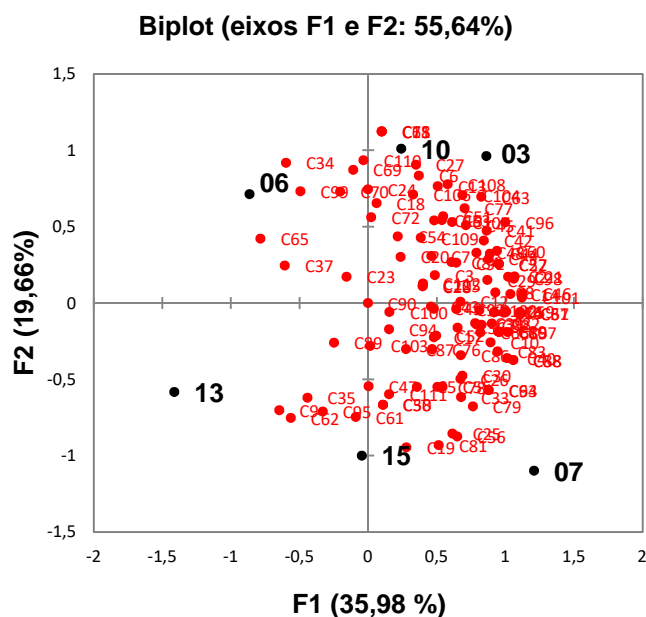
via oral, ou indireta, com o uso de utensílios (ABNT, 1993a; HEATH; PRINZ, 1999; DUTCOSKY, 2007). Neste contexto, a textura foi o atributo mais apreciado na opinião dos consumidores, havendo diferença significativa na nota de aceitação entre as duas amostras dos tratamentos que apresentaram maior crocância (03 e 07), com as amostras dos tratamentos que apresentaram menor crocância (06 e 13).

A aceitação das amostras 10 e 15 em todos os atributos sensoriais avaliados neste trabalho não foram significativamente diferentes entre si, e em alguns atributos ainda apresentaram semelhança ora com o grupo de maiores índice de expansão e crocância, ora com o de menores.

Apesar dos valores de aceitação global das amostras 10 e 15 não serem significativamente diferentes dos valores obtidos para as amostras 03 e 07, estas ainda obtiveram maiores frequências de respostas acima de 6, ou seja, da região “gostei ligeiramente” e, conseqüentemente, foram as amostras mais aceitas que as demais, enquanto que as amostras 06 e 13 foram as menos aceitas, recebendo menores valores médios. Queiroz e Treptow (2006) afirmam que o aspecto visual, que envolve cor, brilho, tamanho e forma, é o primeiro critério adotado na escolha do alimento, ou seja, diante destes resultados, pode-se afirmar que *snacks* de pinhão de maior expansão tendem a ser mais aceitos que *snacks* de pinhão de menor expansão.

O Mapa Interno de Preferência (MIP), mostrado na FIGURA 40, foi gerado através dos dados de aceitação global dos consumidores de pinhão participantes desta primeira análise sensorial e mostra graficamente a aceitação global das seis amostras analisadas de *snacks* de pinhão (amostras 3, 6, 7, 10, 13 e 15), sob a forma de um espaço representado por dimensões preferenciais que explicam a variação total nas respostas sensoriais.

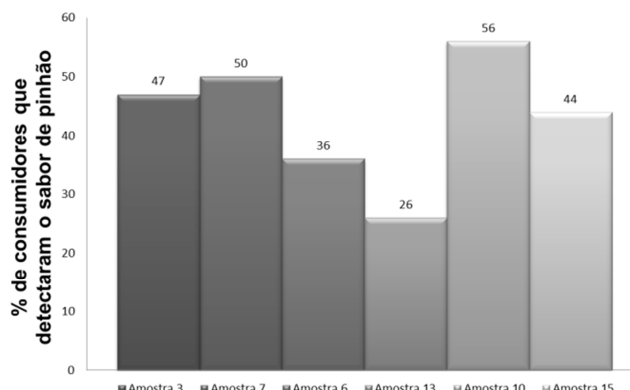
FIGURA 40 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DAS DIMENSÕES 1 E 2 DO MIP MOSTRANDO A POSIÇÃO DOS CONSUMIDORES EM RELAÇÃO À ACEITAÇÃO GLOBAL DOS SNACKS DE PINHÃO



A FIGURA 40 mostra que as duas primeiras dimensões preferenciais foram capazes de explicar 55,64% da variabilidade das respostas dos participantes do estudo em relação à aceitação global dos *snacks* de pinhão. Verificou-se ainda que a maior parte dos consumidores localizou-se nos quadrantes da direita do MIP, indicando que neste trabalho as amostras obtidas pelos tratamentos 03 e 07, seguidas pela obtida no tratamento 10, foram as que tiveram a maior aceitação global pelos consumidores.

Tendo-se em consideração as respostas do questionamento quanto à detecção do sabor de pinhão nesta sensorial, verificou-se que em todas as amostras o sabor de pinhão foi detectado, sendo que a porcentagem de consumidores que afirmaram terem identificado o sabor de pinhão nas amostras obtidas pelo tratamento 10 foi de 56%; tratamento 07, 50%; tratamento 03, 47%; tratamento 15, 44%; tratamento 06, 36%; e tratamento 13, 26% (conforme FIGURA 41), sendo o sabor de pinhão mais facilmente identificado pelos consumidores na amostra obtida pelo tratamento 10, e menos na amostra obtida pelo tratamento 13.

FIGURA 41 - DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS DE RESPOSTAS DOS CONSUMIDORES QUANTO À DETECÇÃO DO SABOR DE PINHÃO PARA OS SNACKS SABOR NATURAL DE PINHÃO



Em termos percentuais, 86% dos consumidores comprariam *snacks* de pinhão, sendo as amostras 03 e 07, no caso, as de maiores valores de IEV e  $N_{sr}$ , as que apresentaram maiores frequências de respostas na pesquisa de compra: 33 e 31%, respectivamente (TABELA 31).

TABELA 30 - RESULTADO DAS FREQUÊNCIAS DE RESPOSTAS NA PESQUISA DE COMPRA DE SNACKS SABOR NATURAL DE PINHÃO

Amostra	IEV	$N_{sr}$ (mm <sup>-1</sup> )	Consumidores (%)
03	23,11±2,41	11,71±1,33	33,0
06	5,35±0,42	9,25±1,08	9,0
07	19,36±1,20	12,01±1,56	31,0
10	7,59±0,78	11,12±0,98	19,0
13	4,70±0,35	8,14±1,21	6,0
15	8,24±0,56	10,74±1,53	10,0

#### 4.4.2 Análise sensorial dos *snacks* aromatizados com sabores salgados

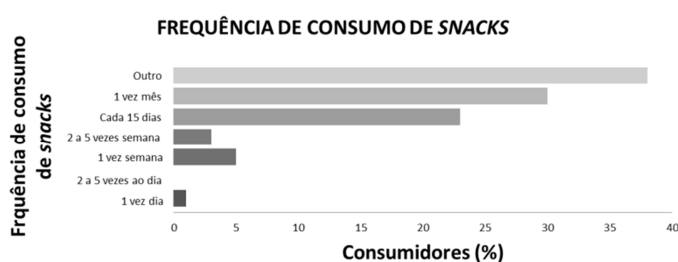
Após a análise sensorial dos *snacks* com sabor natural de pinhão e verificação de qual amostra foi mais bem aceita pelos consumidores, no caso, as amostras obtidas pelo tratamento 07, realizou-se a aromatização em *snacks* obtidos por somente este tratamento para a realização da análise sensorial dos *snacks* aromatizados com sabores salgados.

#### 4.4.2.1 Perfil dos consumidores na análise sensorial dos *snacks* aromatizados com sabores salgados

Nesta análise sensorial do trabalho, também participaram 100 consumidores não treinados dentre os membros da população de consumidores de pinhão, sendo 45% mulheres e 55% homens. A faixa etária predominante foi entre 18 e 25 anos (83%), seguida da faixa entre 26 e 35 anos (14%), 36 e 45 anos (1%); e acima de 46 anos (2%). Quanto ao nível de escolaridade nesta análise sensorial 78% do total dos entrevistados foi composto por quem possuía nível superior incompleto, 14% possuíam pós-graduação, 4% superior completo, 2% segundo grau incompleto e 2% também possuíam pelo menos o primário completo.

Para a realização desta análise sensorial, mais da metade (77%) dos entrevistados consumidores de pinhão disseram consumir *snacks* de diferentes tipos. A frequência do consumo de *snacks* apresentada por todos os consumidores de pinhão que foram entrevistados foi distribuída em: uma vez ao mês 30%, a cada 15 dias 23%, duas a cinco vezes na semana 3% e uma vez na semana 5%, uma vez ao dia 1%, enquanto que 38% do total, disseram consumir com outra frequência não descrita na ficha (FIGURA 42).

FIGURA 42 - DISTRIBUIÇÃO DA FREQUÊNCIA NO CONSUMO DE *SNACKS* PELOS CONSUMIDORES DA SENSORIAL DOS *SNACKS* AROMATIZADOS COM SABORES SALGADOS



#### 4.4.2.2 Teste de aceitação dos *snacks* de pinhão sabores salgados

Ao analisar os resultados dos testes sensoriais aplicados aos *snacks* de pinhão com aromas salgados, verificou-se através da ANOVA que houve diferença significativa no aroma, cor e aceitação global dentre as amostras (TABELA 32).

TABELA 31 - RESULTADO DA ANOVA PARA O TESTE DE ACEITAÇÃO DOS *SNACKS* DE PINHÃO SABORES SALGADOS

Atributo sensorial	Efeito			Erro			F	p
	SQ	GL	QM	SQ	GL	QM		
Cor	19,80	5	3,96	1129,59	594	1,90	2,08	0,07
Aroma	<b>54,59*</b>	<b>5*</b>	<b>10,92*</b>	<b>1642,10*</b>	<b>594*</b>	<b>2,76*</b>	<b>3,95*</b>	<b>0,00*</b>
Sabor	<b>82,11*</b>	<b>5*</b>	<b>16,42*</b>	<b>1708,09*</b>	<b>594*</b>	<b>2,88*</b>	<b>5,71*</b>	<b>0,00*</b>
Textura	3,58	5	0,72	1678,36	594	2,83	0,25	0,94
Aceitação global	<b>48,66*</b>	<b>5*</b>	<b>9,73*</b>	<b>1473,34*</b>	<b>594*</b>	<b>2,48*</b>	<b>3,92*</b>	<b>0,00*</b>

SQ, soma dos quadrados; GL, graus de liberdade; QM, média dos quadrados.

\*  $p < 0,05$ .

Considerando que a análise de variância (TABELA 32) determinou a existência de diferenças entre as amostras em três atributos estudados no teste de aceitação de escala hedônica, foram realizados teste de Tukey nas médias das notas, no sentido de identificar estas diferenças e apresentar quais as amostras de *snacks* de pinhão aromatizados com sabores salgados tiveram maior aceitação em cada atributo. Os resultados encontram-se na TABELA 33.

TABELA 32 - TESTE DE TUKEY APLICADO ÀS AMOSTRAS NO TESTE DE ACEITAÇÃO DE *SNACKS* DE PINHÃO SABORES SALGADOS

Sabor da amostra	Cor	Aroma	Sabor	Textura	Aceitação global
Cebola e salsa	6,28 <sup>a</sup>	5,98 <sup>bc</sup>	6,22 <sup>bc</sup>	6,50 <sup>a</sup>	6,25 <sup>b</sup>
Ervas finas	6,28 <sup>a</sup>	6,62 <sup>ab</sup>	7,05 <sup>a</sup>	6,65 <sup>a</sup>	6,96 <sup>a</sup>
Queijo	6,62 <sup>a</sup>	6,08 <sup>abc</sup>	6,61 <sup>ab</sup>	6,42 <sup>a</sup>	6,46 <sup>ab</sup>
Presunto	6,68 <sup>a</sup>	6,41 <sup>abc</sup>	6,23 <sup>bc</sup>	6,51 <sup>a</sup>	6,27 <sup>b</sup>
Bacon	6,24 <sup>a</sup>	6,69 <sup>a</sup>	6,44 <sup>abc</sup>	6,55 <sup>a</sup>	6,42 <sup>ab</sup>
Salgado	6,27 <sup>a</sup>	5,94 <sup>c</sup>	5,86 <sup>c</sup>	6,43 <sup>a</sup>	6,04 <sup>b</sup>

Médias seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey ( $n=100$ ).

Conforme os dados apresentados na TABELA 33 todos os *snacks* aromatizados com sabores salgados foram aprovados pelos consumidores, com notas superiores a 5 (região de aceitação na escala hedônica de 9 pontos), para todos os atributos avaliados (cor, aroma, sabor, textura e aceitação global). A amostra aromatizada com sabor “ervas finas” foi a que apresentou maior nota de aceitação global (6,96 – próximo a região gostei moderadamente).

Nesta análise sensorial, a porcentagem de consumidores de pinhão que afirmaram terem identificado o sabor de pinhão foi de: 41% na amostra salgada, justamente por esta amostra não ter sido aromatizada; e uma média de 26% em cada uma das demais, sinalizando que mesmo com diferentes aromas, a base de pinhão ainda pode ser percebida.



Em termos percentuais, 86,0% dos consumidores comprariam *snacks* de pinhão aromatizados com sabores salgados, com maior frequência de resposta (48%) apareceu a amostra de sabor ervas finas, seguida pelas amostras aromatizadas com sabor queijo (37%), presunto (30%) e cebola e salsa (27%); 23% dos consumidores comprariam *snacks* de pinhão com aroma sabor bacon, e apenas 10% *snacks* de pinhão salgado (TABELA 34).

TABELA 33 - RESULTADO DAS FREQUÊNCIAS DE RESPOSTAS NA PESQUISA DE COMPRA DE *SNACKS* DE PINHÃO SABORES SALGADOS

Sabor da amostra	Consumidores que comprariam o produto (%)
Cebola e salsa	27
Ervas finas	48
Queijo	37
Presunto	30
Bacon	23
Salgada	10

#### 4.4.3 Análise sensorial dos *snacks* aromatizados com sabores doces

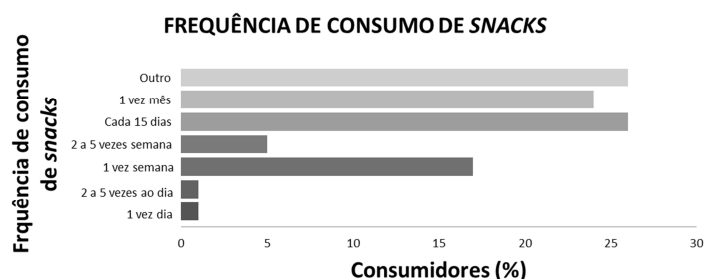
Da mesma forma que pré-selecionada a amostra para aromatização dos *snacks* de pinhão com sabores salgados, os *snacks* de pinhão aromatizados com sabores doces foram obtidos após verificação do resultado da análise sensorial dos *snacks* com sabor natural de pinhão, com seleção e aromatização a partir das amostras obtidas pelo tratamento 07, cuja nota de aceitação global dada pelos consumidores foi a maior dentre as seis amostras analisadas.

##### 4.4.3.1 Perfil dos consumidores na análise sensorial dos *snacks* aromatizados com sabores doces

Da mesma forma que as análises sensoriais realizadas anteriormente, nesta análise sensorial do trabalho, também participaram 100 consumidores não treinados dentre os membros da população de consumidores de pinhão, sendo 40% mulheres e 60% homens. A faixa etária predominante foi entre 18 e 25 anos (77%), seguida da faixa entre 26 e 35 anos (18%), 36 e 45 anos (4%); e acima de 46 anos (1%). O nível de escolaridade dos consumidores foi distribuído em: 65% por pessoas que possuíam nível superior incompleto, 23% que possuíam pós-graduação, 6% que possuíam superior completo e 6% o segundo grau completo.

Para a realização desta análise sensorial, também quase 90% dos entrevistados consumidores de pinhão disseram consumir *snacks* de diferentes tipos. A frequência do consumo de *snacks* apresentada por todos os consumidores de pinhão que foram entrevistados foi distribuída em: uma vez ao mês 24%, a cada 15 dias 26%, 2 a 5 vezes na semana 5% e uma vez na semana 17%, 1 a 5 vezes ao dia 2%, enquanto que 26% do total, disseram consumir com outra frequência não descrita na ficha (FIGURA 43).

FIGURA 43 - DISTRIBUIÇÃO DA FREQUÊNCIA NO CONSUMO DE *SNACKS* PELOS CONSUMIDORES DA SENSORIAL DOS *SNACKS* AROMATIZADOS COM SABORES DOCES



#### 4.4.3.2 Teste de aceitação dos *snacks* de pinhão sabores doces

Nesta análise sensorial foi verificado através da ANOVA que houve diferença significativa dentre as amostras somente no aroma (TABELA 35).

TABELA 34 - RESULTADO DA ANOVA PARA O TESTE DE ACEITAÇÃO DOS *SNACKS* DE PINHÃO SABORES DOCES

Atributo sensorial	Efeito			Erro			F	p
	SQ	GL	QM	SQ	GL	QM		
Cor	4,45	5	0,89	1080,87	594	1,82	0,49	0,78
Aroma	<b>75,61*</b>	<b>5*</b>	<b>15,12*</b>	<b>1242,36*</b>	<b>594*</b>	<b>2,09*</b>	<b>7,23*</b>	<b>0,00*</b>
Sabor	13,35	5	2,67	1882,51	594	3,17	0,84	0,52
Textura	14,66	5	2,93	1256,93	594	2,12	1,39	0,23
Aceitação global	9,93	5	1,99	1268,06	594	2,13	0,93	0,46

SQ, soma dos quadrados; GL, graus de liberdade; QM, média dos quadrados.

\*  $p < 0,05$ .

Considerando que a análise de variância (TABELA 35) determinou a existência de diferença entre as amostras em apenas um dos atributos estudados no teste de aceitação de escala Hedônica, foram realizados teste de Tukey nas médias das notas, no sentido de identificar estas diferenças e apresentar quais as amostras

de *snacks* de pinhão aromatizados com sabores doces tiveram maior aceitação em cada atributo. Os resultados encontram-se na TABELA 36.

TABELA 35 - TESTE DE TUKEY APLICADO ÀS AMOSTRAS NO TESTE DE ACEITAÇÃO DOS SNACKS DE PINHÃO SABORES DOCES

Amostra sabor	Cor	Aroma	Sabor	Textura	Aceitação global
Baunilha	6,47 <sup>a</sup>	6,53 <sup>ab</sup>	6,74 <sup>a</sup>	6,75 <sup>a</sup>	6,65 <sup>a</sup>
Morango	6,37 <sup>a</sup>	6,97 <sup>a</sup>	6,69 <sup>a</sup>	6,90 <sup>a</sup>	6,66 <sup>a</sup>
Banana	6,49 <sup>a</sup>	6,85 <sup>ab</sup>	6,37 <sup>a</sup>	6,76 <sup>a</sup>	6,54 <sup>a</sup>
Chocolate	6,24 <sup>a</sup>	6,50 <sup>ab</sup>	6,47 <sup>a</sup>	6,49 <sup>a</sup>	6,32 <sup>a</sup>
Canela	6,43 <sup>a</sup>	6,30 <sup>bc</sup>	6,47 <sup>a</sup>	6,52 <sup>a</sup>	6,48 <sup>a</sup>
Doce	6,47 <sup>a</sup>	5,89 <sup>c</sup>	6,35 <sup>a</sup>	6,51 <sup>a</sup>	6,37 <sup>a</sup>

Médias seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey ( $n=100$ ).

Conforme os dados apresentados na TABELA 36 da mesma forma que os *snacks* de pinhão aromatizados com sabores salgados, os com sabores doces também obtiveram notas superiores a 5 para todos os atributos avaliados, indicando que foram regularmente aceitos pelos consumidores.

A porcentagem de consumidores de pinhão que afirmaram terem identificado o sabor de pinhão nesta análise sensorial, de avaliação de amostras aromatizadas com sabores doces, foi de 42% na amostra doce; 38% nas amostras com sabor baunilha e canela; 29% na amostra sabor chocolate; e 19% e 13% nas amostras sabor morango e banana. Da mesma forma que no teste aplicado para as amostras salgadas, a maior porcentagem de identificação do aroma de pinhão nesta análise correspondeu justamente à amostra não aromatizada.

Em termos percentuais, 92% dos consumidores comprariam *snacks* de pinhão aromatizados com sabores doces, com maior frequência de resposta (41%) apareceu a amostra de sabor morango, seguida pelas amostras aromatizadas com sabor banana (39%) e cerca de 30% sabores baunilha (33%), canela (31%) e chocolate (32%). Mesmo apresentando menor frequência de resposta de compra, 23% dos consumidores disseram comprar *snacks* de pinhão doce (TABELA 37).

TABELA 36 - RESULTADO DAS FREQUÊNCIAS DE RESPOSTA NA PESQUISA DE COMPRA DE SNACKS DE PINHÃO SABORES DOCES

Sabor da amostra	Consumidores que comprariam o produto (%)
Baunilha	33
Morango	41
Banana	39
Chocolate	31
Canela	32
Doce	23

## 5. CONCLUSÃO

Este estudo permitiu concluir que:

- A quantidade de carboidratos determinada na caracterização centesimal dos pinhões mostrou que essa matéria-prima pode ser processada por extrusão;
- A amilopectina do amido de pinhão é formada em maiores proporções por cadeias médias curtas (DP 13-24) e comprimento médio de cadeia ramificada de 19,7-21,4 unidades de glicose anidra (AGU);
- O amido gelatinizado de pinhão apresentou níveis elevados de amido rapidamente digerido (ARD), como a maioria das fontes amiláceas, contudo, consideráveis quantidades de amido lentamente digerido (ALD) e amido resistente (AR), o que desperta potencial promoção de saúde com o seu consumo;
- As morfologias dos grânulos de amidos de pinhão não diferiram entre si. As temperaturas *onset*, de pico e de conclusão de amidos retrogradados e poder de inchamento a 95 °C também não mostraram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as amostras. No entanto, os outros parâmetros avaliados apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre elas, o que pode ser atribuído não ao fato de que as sementes foram coletadas em diferentes períodos (precoce ou médio), mas apenas porque as mesmas foram provenientes de diferentes acessos;
- As correlações entre a estrutura molecular e as propriedades funcionais do amido de pinhão apresentados neste estudo podem contribuir para o desenvolvimento de uso industrial dessa semente comestível pouco estudada;
- As condições operacionais de extrusão afetaram significativamente os parâmetros de extrusados de pinhão da seguinte forma:
  - O aumento da umidade promoveu maiores força de rupturas estruturais ( $F_{sr}$ ), força de compressão ( $F_c$ ), trabalho de crocância ( $W_c$ ) e a luminosidade das amostras; e menores índices de expansão seccional (IES) e volumétrico (IEV), valores de  $a^*$ , correspondente à cromaticidade verde/vermelho, e valores de  $b^*$ , correspondente à cromaticidade amarelo/azul.
  - O aumento da rotação promoveu maior índice de expansão volumétrica;

- A interação dos fatores umidade e rotação de forma inversa, ou seja, menor umidade e maior rotação resultaram em extrusados mais expandidos (maior IEV);
- A interação dos fatores umidade e temperatura de forma direta, ou seja, maiores temperatura e umidade aumentou tanto a força de compressão ( $F_c$ ), quanto o trabalho de crocância ( $W_c$ ).
- Dentre os fatores de processo que variaram, a umidade da matéria-prima para extrusão foi o que exerceu efeito mais pronunciado sobre os parâmetros analisados nos produtos extrusados;
  - Os *snacks* de pinhão que apresentaram maior taxa de expansão e crocância, obtidos nas condições de menores porcentagem de umidade da matéria-prima ( $15,5 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ ) e temperatura de extrusão ( $136 \text{ }^\circ\text{C}$ ), tiveram maior aceitação global pelos consumidores (maiores frequência de repostas mais próximas de “gostei muitíssimo”);
  - Os *snacks* de pinhão foram aprovados pelos consumidores sendo que destes, 86% comprariam o produto tanto na sua forma natural quanto salgada, enquanto 92% comprariam na forma aromatizada doce;
  - A amostra de *snacks* de pinhão aromatizada com sabor “ervas finas” foi a que apresentou maior nota de aceitação global dentre as salgadas, não havendo nenhuma amostra que tenha se destacado dentre as doces.

Este estudo representa uma possibilidade promissora para converter estas sementes em produtos industrializados com potencial de aceitação nutricional e sensorial, o que, além de agregar valor às mesmas, pode auxiliar na preservação e manutenção de *Araucaria angustifolia* nas florestas.

## 6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Este trabalho teve o intuito estudar a conversão de sementes de *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze em produtos industrializados. Espera-se, contudo, que os resultados obtidos e apresentados nesta pesquisa possam contribuir para o desenvolvimento de trabalhos futuros tais como:

- Direcionamentos de aplicação industrial dos amidos das sementes providas de determinados acessos;
- Aplicação de outros limites de rotação e temperatura no planejamento de extrusão de sementes de *Araucaria angustifolia*;
- Estudos do efeito da adição da película das sementes de *Araucaria angustifolia* no processamento de extrusão;
- Estudo do aproveitamento da casca do pinhão como um subproduto (farinha, suplemento alimentar, substrato, entre outros);
- Aplicação de análises sensoriais nos industrializados de sementes de *Araucaria angustifolia* explorando a técnica da multivariada.

## REFERÊNCIAS

- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12.806**. Análise sensorial dos alimentos e bebidas. Terminologia. Rio de Janeiro: ABNT, 1993a.
- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12.994**. Métodos de análise sensorial de alimentos e bebidas: classificação. Rio de Janeiro: ABNT, 1993b.
- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 14.141**. Escalas utilizadas em análise sensorial de alimentos e bebidas. Rio de Janeiro: ABNT, 1998.
- AI, Y.; MEDIC, J.; JIANG, H.; WANG, D.; JANE, J. Starch characterization and ethanol production of sorghum. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 59, p. 7385–7392, 2011.
- AI, Y.; NELSON, B.; BIRT, D. F.; JANE, J. In vitro and in vivo digestion of octenyl succinic starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, p. 1266-1271, 2013.
- ALONSO, R.; AGUIRRE, A.; MARZO, F. Effects of extrusion and traditional processing methods on antinutrients and in vitro digestibility of protein and starch in feba and kindey beans. **Food Chemistry**, 68, p. 159–165, 2000.
- ALTAN, A.; MCCARTHY, T. L.; MASKAN, M. Effect of extrusion cooking on functional properties and in vitro starch digestibility of barley-based extrudates from fruit and vegetable by-products. **Journal of Food Science**, v. 89, p. 1587-1592, 2009.
- ALVAREZ-MARTINEZ, L.; KONDURY, K. P.; HARPER, J. M. A general model for expansion of extruded products. **Journal of Food Science**, 53(2), p. 609–615, 1988.
- AMARANTE, C. V. T.; MOTA, C. S.; MEGGUER, C. A.; IDE, G. M. Conservação pós-colheita de pinhões [sementes de *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze] armazenados em diferentes temperaturas. **Ciência Rural**, v. 37, n. 2, p. 346-351, 2007.
- ANDERSON, R. A.; CONWAY, H. F.; PFEIFER, V. F.; GRIFFIN, E. L. J. Gelatinization of corn grits by roll and extrusion cooking. **Cereal Science Today**, v. 14, p. 4-12, 1969.
- ANNISON, G.; TOPPING, D. L. Nutritional role of resistant starch: chemical structure vs physiological function. **Annual Review Nutrition**, v. 14, p.297-320, 1994.
- ANTON, A. A.; LUCIANO, F. B. Instrumental texture evaluation of extruded snack foods: a review. **Ciencia y Tecnologia Alimentaria** 5 (4), 245–251, 2007.
- AO, Z.; SIMSEK, S.; ZHANG, G.; VENKATACHALAM, M.; REUHS, B. L.; HAMAKER, B. R. Starch with a Slow Digestion Property Produced by Altering Its Chain Length, Branch Density, and Crystalline Structure. **Journal Agric. Food Chem.**, 55, p. 4540-4547, 2007.

AOAC – AMERICAN ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the American Association of Official Analytical Chemists**. 17th edition. Gaithersburg: USA, 2000.

APREMAVI. **Floresta com Araucárias**. Disponível em: <http://www.apremavi.org.br/floresta-com-araucarias>. Acesso em: 15 maio 2013.

ARÊAS, J. A. G. Interações moleculares do amido durante o processo de extrusão. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 28-30, 1996.

AZEREDO, H. M. C.; BRITO, E. S.; GARRUTI, D. S. Alterações químicas durante a estocagem. In: **Fundamentos da estabilidade de alimentos**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, cap. 2, p. 37-64, 2004.

BADRIE, N.; MELLOWES, W. A. Effect of extrusion variables on cassava extrudates. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 56, p. 1334-1337, 1991.

BANDEL, G.; GURGEL, J. A. A. Proporção do sexo em *Araucaria angustifolia*. **Silvicultura em São Paulo**, v. 6, p. 209-220, 1967.

BARBUTI, S.; PAROLARI, G. Causes and prevention of dry-cured ham defects. In: II SYMPOSIUM INTERNACIONAL DEL JAMON CURADO. **Anais...** Barcelona, Espanha, p. 19-25, 2000.

BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M. N. **Fundamento de tecnologia de alimentos** Série: Ciência, Tecnologia, Engenharia de Alimentos e Nutrição, v.3. São Paulo: Atheneu, 1998.

BEDNAR, G. E.; PLATIL, A. R.; MURRAY, S. M.; GRIESHOP, C. M.; MERCHEN, N. R.; FAHEY, G. C. Starch and fiber fractions in selected food and feed ingredients affect their small intestinal digestibility and fermentability and their large bowel fermentability *in vitro* in a canine model. **Journal of Nutrition**, v.131, n.2, p. 276-286, 2001.

BELLO-PÉREZ, L. A.; GARCÍA-SOAREZ, F. J.; MÉNDEZ-MONTEALVO, G.; NASCIMENTO, J. R. O.; CORDENUSI, B. R. Isolation and characterization of starch from seeds of *Araucaria brasiliensis*: A novel starch for application in food industry. **Starch/Stärke**, 58, p. 283-291, 2006.

BEMILLER, J. N.; WHISTLER, R. L. Carbohydrates. In: O.R. Fennema (Ed.) **Food Chemistry**. New York: Marcel Dekker Inc., p. 157–223, 1996.

BERK, Z. **Food process engineering and technology**. Academic Press, New York, 2009.

BERTOFT, E. On the nature of categories of chains in amylopectin and their connection to the super helix model. **Carbohydrate Polymers**, v. 57, p. 211-224, 2004.



BICUDO, S. C. W.; DEMIATE, I. M.; BANNACH, G.; LACERDA, L. G.; CARVALHO FILHO M. IONASHIRO, M.; SCHNITZLER, E. Thermoanalytical study and characterization of native starches of Parana' pine seeds (*Araucaria angustifolia* Bert O. Ktze) and European chestnut seeds (*Castanea sativa*, Mill). **Eclética Química**, 34, p. 7–12, 2009.

BILIADERIS, C. G. Physical characteristics, enzymatic digestibility, and structure of chemically modified smooth pea and waxy maize starches. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 30, p. 925-930, 1982.

BILIADERIS, C. G. The structure and interactions of starch with food constituents. **Canadian Journal Physiology Pharmacology**, v.69, p.60-78, 1991.

BIOINFO. Polysaccharides and Proteoglycans, 2016. Disponível em: <<http://www.bioinfo.org.cn/>>. Acesso em: 10 set. 2016.

BORBA, A. M.; SARMENTO, S. B. S.; LEONEL, M. Efeito dos parâmetros de extrusão sobre as propriedades funcionais de extrusados da farinha de batata-doce. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n. 25 (4), p. 835-843, out.-dez., 2005.

BORDA, E. L.; STEHMANN, J. R. Morfologia e Taxonomia de Espermatófitas e Magnoliófitas, 2007. Disponível em: <<http://www.icb.ufmg.br/bot/mtembot/aulas.htm>>. Acesso em: 30 abril 2013.

BOUVIER, J. M.; BONNEVILLE, R.; GOULLIEUX, A. Instrumental methods for the measurement of extrudate crispness. **Agro-Food Industry Hi-Technology**, v. 8, p. 16–19, 1997.

BOX, G. E. P.; HUNTER, W. G.; HUNTER, J. S. **Statistics for Experimenters: An Introduction to Design, Data Analysis, and Model Building**, John Wiley and Sons, New York, 1978.

BRASIL. Decreto nº 12.486, de 20 de outubro de 1978. Normas técnicas especiais relativas a alimentos e bebidas. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**, São Paulo, 21 out. 1978.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instrução normativa nº 6 de 23 de setembro de 2008a. Lista as espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção e com deficiência de dados. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, n. 185, 24 set. 2008. Seção 1, p. 75-85.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 64, de 17 de setembro de 2008b. Aprova Regulamento Técnico sobre Atribuição de aditivos e seus limites máximos para alimentos. **Diário Oficial [da] União**, n. 180, 17 set. 2008. Seção 1, p. 46.

BULEÓN, A.; COLONNA, P.; PLANCHOT, V.; BALL, S. Starch granules: structure and biosynthesis – Mini review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 23, n. 2, p. 85-112, 1998.

CAI, J.; MAN, J.; HUANG, J.; LIU, Q.; WEI, W.; WEI, C. Relationship between structure and functional properties of normal rice starches with different amylose contents. **Carbohydrate Polymers**, v. 125, p. 35-44, 2015.

CAMIRE, M. E. Chemical changes during extrusion cooking - Recent advances. **Process-Induced Chem Changes in Food**, v. 434, p. 109-121, 1998.

CAPELLA, A. C. de V.; PENTEADO, P. T. P. da S.; BALBI, M. E. Semente de *Araucaria angustifolia*: aspectos morfológicos e composição química da farinha. **B. CEPPA**, Curitiba v. 27, n. 1, p. 135-142, jan./jun., 2009.

CAPONERO, J.; TENÓRIO, J. A. S. Técnicas de Análise Térmica. Disponível em: <ftp://ftp.cefetes.br/cursos/MetalurgiaMateriais/Estefano/caracterizacaomestrado/ANALISETERMICA1.pdf>. Acesso em: 10 jun. 2013.

CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B. Análise da aceitação de aguardentes de cana por testes afetivos e mapa de preferência interno. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 1, p. 32-36, jan./abr. 2000.

CARVALHO, A. V.; BASSINELLO, P. Z.; MATTIETTO, R. de A.; CARVALHO, R. N.; RIOS, A. de O.; SECCADIO, L. L. Processamento e caracterização de snack extrudado a partir de farinhas de quirera de arroz e de bandinha de feijão. **Braz. J. Food Technology**, v. 15, n. 1, p. 72-83, jan./mar., 2012.

CARVALHO, A. V.; VASCONCELOS, M. A. M.; SILVA, P. A.; ASSIS, G. T.; ASCHERI, J. L. R. Caracterização tecnológica de extrusados de terceira geração à base de farinhas de mandioca e pupunha. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34 n. 4, p. 995-1003, 2010a.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e usos da madeira**. Colombo: Embrapa/CNPQ, 1994.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Embrapa Informação Tecnológica. 1039 p. 2003.

CARVALHO, C. W. P. de; ASCHERI, J. L. R. Effect of dry-milling on physicochemical characteristics of white corn extrudates. **Alimentaria**, v. 305, p. 115–119, 1999.

CARVALHO, C. W. P. de; ASCHERI, J. L. R. Produção de extrusados doces. **Documentos Embrapa**, n. 56, p. 1-20, dez., 2004.

CARVALHO, C. W. P. de; ASCHERI, J. L. R.; CAL-VIDAL, J. Efeito dos parâmetros de extrusão nas propriedades físicas de extrusados (3G) de misturas de farinhas de trigo, arroz e banana. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n.5, p. 1001-1018, set./out. 2002.

CARVALHO, C. W. P. de; TAKEITI, C. Y.; ONWULATA, C. I.; PORDESIMO, L. O. Relative effect of particle size on the physical properties of corn meal extrudates: Effect of particle size on the extrusion of corn meal. **Journal of Food Engineering**, 98, p. 103–109, 2010b.

CEREDA, M. P. **Propriedades gerais do amido**. São Paulo: Fundação Cargill, 221 p., 2001.

CHANG, Y. K.; EL-DASH, A. A. Effects of acid concentration and extrusion variables on some physical characteristics and energy requirements of cassava starch. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 20, p.129-137, 2003.

CHAPLIN, M. Polysaccharide Hydration. Disponível em: <http://www.lsbu.ac.uk/water/hysta.html>. Acesso em: 28 maio 2013.

CHUNG, H.; LIU, Q. Physicochemical properties and in vitro digestibility of flour and starch from pea (*Pisum sativum* L.) cultivars. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 50, p. 131– 137, 2012.

CHUNG, H.; LIU, Q.; LEE, L.; WEI, D. Relationship between the structure, physicochemical properties and in vitro digestibility of rice starches with different amylose contents. **Food Hydrocolloids**, v.25, p. 968-975, 2011.

CLADERA-OLIVERA F.; PETTERMANN, A. C.; NOREÑA, C. P. Z.; WADA, K.; MARCZAK, L. D. F. Thermodynamic properties of moisture desorption of raw *pinhão* (*Araucaria angustifolia* seeds). **International Journal Food Science Technology**, Vol. 43, p. 900-907, 2008.

CLERICE, M. T. P. S.; EL-DASH, A. A. Características tecnológicas de farinhas de arroz pré-gelatinizadas obtidas por extrusão termoplástica. **Ciência e Agrotecnologia**, 32, n.5, Lavras, p. 1543-1550, 2008.

CN-RBMA - Projeto Inventário dos Recursos Florestais da Mata Atlântica, 2014. Disponível em: [http://www.rbma.org.br/anuario/mata\\_03\\_anosdestituicao\\_dest\\_araucaria.asp](http://www.rbma.org.br/anuario/mata_03_anosdestituicao_dest_araucaria.asp). Acesso em: 11 jul. 2015.

COLONNA, P.; BULEON, A.; MERCIER, C. Physically modified starch. In: GALLIARD, T. **Starch: properties and potencial**. Chichester: John Wiley & Sons, Cap. 4, p. 79-114, 1987.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Pinhão (semente), 2014. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/>. Acesso em: 05 de set. 2016.

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução CONAMA nº 278/2001**. Dispõe contra corte e exploração de espécies ameaçadas de extinção da flora da Mata Atlântica. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, n. 138, p. 51-52, 18 jul. 2001.

CONFORTI, P. A.; LUPANO, C. E. Starch Characterisation of *Araucaria angustifolia* and *Araucaria araucana* Seeds. **Starch/Stärke**, v.59, p. 284-289, 2007.

COOKE, D.; GIDLEY, M. J. Loss of crystalline and molecular order during starch gelatinization. Origin of the enthalpy transition. **Carbohydrate Research**, 227, p. 103–112, 1992.

CORDENUNSI, B. R.; MENEZES, E. W. de; GENOVESE, M. I.; COLLI, C.; SOUZA, A. G. de, LAJOLO, F. M. Chemical Composition and Glycemic Index Of Brazilian Pine Seeds (*Araucaria angustifolia*), **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 52, n.11, p. 3412-3416, 2004.

COSTA, F. J. O. G. da. **Avaliação, caracterização de pinhão (sementes de *Araucaria angustifolia*) nativas do estado do Paraná e seu uso em um produto alimentício**. 146 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

COSTA, F. J. O. G. da; COUTO, J. M. C.; WASZCZYNSKYJ, N.; GODOI, R. C. B. de; CARVALHO, C. W. P. de; WALTER, E. H. M. Extração De amido de pinhão. **Comunicado Técnico EMBRAPA**. n.349, 2014.

COSTA, F. J. O. G. da; LEIVAS, C. L.; WASZCZYNSKYJ, N.; GODOI, R. C. B. de; HELM, C. V.; COLMAN, T. A. D.; SCHNITZLER, E. Characterisation of native starches of seeds of *Araucaria Angustifolia* from four Germplasm Collections. **Thermochimica Acta**, v. 565, p. 172-177, 2013.

CRAIG, S. A. S.; MANINGAT, C. C.; SEIB, P. A.; HOSENEY R. C. Starch Paste Clarity. **Cereal Chemistry**, v. 66, n. 3, p. 173-182, 1989.

DAIUTO, E. R.; CEREDA, M. P.; CARVALHO, L. J. C. B. Características e propriedades do amido extraído de camadas do tecido da raiz de mandioca. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 5, p. 217-223, 2002.

DANNER, M. A.; ZANETTE, F.; RIBEIRO, J. Z. O cultivo da araucária para a produção de pinhões como ferramenta para a conservação. **Pesquisa Florestal Brasileira – Brazilian Journal of Forestry Research**, v. 32, n. 72, p. 441-451, out./nov. 2012.

DAUDT, R. M.; KÜLKAMP-GUERREIRO, I. C.; CLADERA-OLIVERA, F.; THYS, R. C. S.; MARCZAK, L. D. F. Determination of properties of pinhão starch: Analysis of its applicability as pharmaceutical excipient. **Industrial Crops and Products**, 52, p. 420– 429, 2014.

DELLA LUCIA, S. M.; MININ, V. P. R.; CARNEIRO, J. D. S. Análise Sensorial de Alimentos. In: MININ, V. P. R. **Análise Sensorial: Estudos com consumidores**. Viçosa: Editora UFV, cap. 1, p. 13-49, 2006.

DELLA VALLE, G.; VERGES, B.; COLONNA, P.; PATRIA, A. Relations between rheological properties of molten starches and their expansion behavior in extrusion. **Journal of Food Engineering**, v. 31, p. 277-296, 1997.

DE PENNA, E. W. Metodos sensoriales y sus aplicaciones. *Avances en análisis sensorial*. In: ALMEIDA, T. C. A.; HOUGH, G.; DAMÁSIO, M. H.; SILVA, M. A. A. P. da (Edit.). **Avanços em Análise Sensorial**. São Paulo: Varela, 1999. p. 13-22.

DIAS, L. T.; LEONEL, M. Caracterização físico-química de farinhas de mandioca de diferentes localidades do Brasil. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 692-700, 2006.

DING, Q.; AINSWORTH, P.; TUCKER, G.; MARSON, H. The effect of extrusion conditions on the physicochemical properties and sensory characteristics of rice based expanded *snacks*. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 66, n. 5, p. 283-289, 2005.

DOGAN, H.; KARWE, M. V. Physicochemical properties of quinoa extrudates. **Food Science and Technology International**, v. 2, p. 101-114, 2003.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. R.; ROBERTS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-354, 1956.

DUAN, D. X.; DONNER, E.; LIU, Q.; SMITH, D. C.; RAVANELLE, F. Potentiometric titration for determination of amylose content of starch – A comparison with colorimetric method. **Food Chemistry**, 130, p. 1142-1145, 2012.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. 2 ed. Curitiba: Editora Champagnat, 2007.

ELIASSON, A. C. **Carbohydrates in food**. New York: Marcel Dekker, 664 p. 1996.

ELIASSON, A. C. **Starch in food – Structure, function and applications**. New York: Boca Raton, CRC, 605 p. 2004.

ELIASSON, A. C.; RYANG, H. K. Changes in rheological properties of hydroxipropyl potato starch paste during freeze-thaw treatments. **Journal of Texture Studies**, v. 23, p. 279-296, 1992.

ENGLYST, H. N.; KINGMAN, S. M.; CUMMINGS, J. H. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 46, Supl. 2, p. S33-S50, 1992.

FAGRO, *Araucaria angustifolia* / *Araucariaceae*, 2016. Disponível em: [http://www.fagro.edu.uy/botanica/www\\_botanica/webcursobotanica/web\\_practicos\\_reconocimiento/web\\_reconocimiento\\_especies/araucaria\\_angustifolia.html](http://www.fagro.edu.uy/botanica/www_botanica/webcursobotanica/web_practicos_reconocimiento/web_reconocimiento_especies/araucaria_angustifolia.html). Acesso em: 05 set. 2016.

FAN, J. T.; MITCHELL, J. R.; BLANSHARD, J. M. V. The effect of sugars on the extrusion of maize grits. I. The role of the glass transition in determining product density and shape. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 31, n. 1, p. 55–65, 1996.

FARJON, A. *Araucaria angustifolia*. In: \_\_\_\_\_. **2008 IUCN Red List of Threatened Species**. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org/details/32975>. Acesso em: 22/04/2013.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

FERNANDEZ, J. H. **Identificação e Caracterização de Proteínas e Genes Expressos Diferencialmente durante o Desenvolvimento do Embrião Zigótico de *Araucaria angustifolia***. 98 p. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural) – Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo, Universidade Estadual de Campinas. São Paulo, 2003.

FERREIRA, V. L.; ALMEIDA, T. C. A.; PETTINELLI, M. L. C.; SILVA, M. A. A. P.; CHAVES, J. B. P.; BARBOSA, E. M. **Análise sensorial de testes discriminativos e afetivos**. (Manual Série Qualidade). Campinas: SBCTA, 2000.

FIGUEIREDO FILHO, A.; ORELLANA, E.; NASCIMENTO, F.; DIAS, A. N.; INOUE, M. T. Produção de sementes de *Araucaria angustifolia* em plantio e em floresta natural no centro-sul do estado do Paraná. **Floresta**, v. 41, n. 1, p. 155-162, jan./mar., 2011.

FILLI, K. B.; NKAMA, I. Hydratation properties of extruded fura from millet and legumes. **British Food Journal**, v. 109, p. 68-80, 2007.

FINLEY, C. E.; BARLOW, C. E.; HALTON, T. L.; HASKELL, W. L. Glycemic index, glycemic load, and prevalence of the metabolic syndrome in the Cooper Center longitudinal study. **Journal of the American Dietetic Association**, 110(12), p. 1820–1829, 2010.

FLORIANI, G. S. Debulhando pinha, semeando pinhão: propostas de uso e conservação para a araucária. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 1, p. 1803-1806, 2007.

FOWLER, J. A. P.; BIANCHETTI, A.; ZANON, A. Conservação de sementes de pinheiro-do-Paraná sob diferentes condições de ambientes e embalagens. **Comunicado Técnico Embrapa**, n. 34, p. 1-4, dez/98.

FRAIHA, Marcos. **Efeitos da temperatura, pressão e taxa de cisalhamento sobre a viabilidade de esporo termodúrico durante a extrusão de alimentos para animais**. 197 p. Tese (Doutorado em engenharia Agrícola) – Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

FRANCO, C. M.; DAIUTO, E. R.; DEMIATE, I. M.; CARVALHO, L. J. C. B.; LEONEL, M.; CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F.; SARMENTO, S. B. S. **Propriedades gerais do amido**. Série Cultura de tuberosas amiláceas latino americanas, v.1. São Paulo: Fundação Cargill, 2001.

FRANCO, C. M. L.; WONG, K.; YOO, S.; JANE, J. Structural and Functional Characteristics of Selected Soft Wheat Starches. **Cereal Chemistry**, 79(2), p. 243–248, 2002.

FUENTES-ZARAGOZA, E.; RIQUELME-NAVARRETE, M. J.; SÁNCHEZ-ZAPATA, E.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A. Resistant starch as a functional ingredient: A review. **Food Research International**, v. 43, p. 931–942, 2010.

GALLANT, D. J.; BOUCHET, B.; BULEON, A.; PEREZ, S. Physical characteristics of starch granules and susceptibility to enzymatic degradation. **Eur. J. Clin. Nutr.** 46, p. 3–16, 1992.

GAMA, T. M. M. T. B.; MASSON, M. L.; HARACEMIV, S. M. C.; ZANETTE, F.; CÓRDOVA, K. R. V. A influência de tratamentos térmicos no teor de amido, cor e aparência microscópica de pinhão nativo (*Araucaria angustifolia*) e pinhão proveniente de polinização controlada. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 04, n. 02, p. 161-178, 2010.

GENKINA, N. K.; WIKMAN, J.; BERTOFT, E.; YURYEV, P. Effects of structural imperfection on gelatinization characteristics of amylopectin starches with A- and B-type crystallinity. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 7, p. 2329-2335, 2007.

GÉRARD, C.; BARRON, C.; COLONNA, P.; PLANCHOT, V. Amylose determination in genetically modified starches. **Carbohydrate Polymers**, v.44, n.1, p 19-27, 2001.

GIANINNI, R. A. Breve panorama do mercado de amidos. 2011. Disponível em: [http://www.gtconsult.com.br/portugues/artigos/panorama\\_mercado\\_amido.pdf](http://www.gtconsult.com.br/portugues/artigos/panorama_mercado_amido.pdf). Acesso em: 01 jul. 2013.

GIBSON, G. R.; WILLIAMS, C. M. **Functional foods: concept to product**. Cambridge: Woodhead, 2000.

GIUNTINI, E. B.; MENEZES, E. W.; F. M. LAJOLO. Potencial de Fibra Alimentar, em países Ibero-Americanos: Alimentos, Produtos e Resíduos. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v.53, n.1, 2003.

GOMES, A. M. M.; SILVA, C. E. M.; RICARDO, N. M. P. S. Effects of annealing on the physicochemical properties of fermented cassava starch (polvilho azedo). **Carbohydrate Polymers**, v. 60, n.1, p. 1-6, 2005.

GOMEZ, M. H.; AGUILERA, J. M. Changes in the starch fraction during extrusion cooking of corn. **Journal of Food Science**, 48, 378-381, 1983.

GRANATO, D.; CALADO, V. M. A.; JARVIS, B. Observations on the use of statistical methods in Food Science and Technology. **Food Research International**, v. 55, p. 137-149, 2014.

GREENHOFF, K.; MACFIE, H. J. H. Preference mapping in practice. In: MACFIE, H. J. H.; THOMSON, D. M. H. **Measurements of Food Preferences**. London: Blackie Academic & Professional. p. 137-166, 1994.

GRODZKI, L.; BOEGER, M. R. T. Caracterização da vegetação pioneira de uma área de exploração de *Mimosa scabrella* Benth. (Bracatinga), no município de Colombo, PR. **Revista Floresta**, v. 31, n. 1/2, p. 3-98, jan./dez., 2001.

GUERREIRO, L. **Produtos Extrusados para Consumo Humano, Animal e Industrial**. Rio de Janeiro: Dossiê Técnico – Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas – SBRT, 25 p., 2007.

GUHA, M.; ALI, S. Z.; BHATTACHARYA, S. Effect of barrel temperature and screw speed on rapid viscoanalyser pasting behavior of rice extrudated. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 33, p. 259-266, 1998.

GUHA, M.; ALI, S.Z.; BHATTACHARYA, S. Twin-screw extrusion of rice flour without a die: effect of barrel temperature and screw speed on extrusion and extrudate characteristics. **Journal of Food Engineering**, v. 32, p. 251-267, 1997.

GUTKOSKI, L. C. Extrusão de produtos de aveia. In: GUTKOSKI, L. C.; PEDÓ, I. **Aveia: composição química, valor nutricional e processamento**. São Paulo: Varela, Cap. 7, p. 169-203, 2000.

GUY, R. **Extrusion cooking: technologies and applications**, Woodhead Publishing, ISBN 978-185-5735-59-0, Cambridge, United Kingdom, 2001.

HAASE, N. U.; MINTUS, T.; WEIPERT, D. Viscosity measurements of potato starch paste with the Rapid-Visco-Analyzer. **Starch-Starke**, v. 47, n. 4, p. 123-126, 1995.

HANASHIRO, I.; ABE, J.; HIZUKURI, S. A periodic distribution of chain length of amylopectin as revealed by high-performance anion-exchange chromatography. **Carbohydrate Research**, 283, p. 151-159, 1996.

HEATH, M. R.; PRINZ, J. F. Oral processing of foods and the sensory evaluation of texture. In: ROSENTHAL, A. J. Food texture: measurement and perception. Gaithersburg : Aspen Publishers, p.18-29, 1999.

HESS, A. F.; CALGAROTTO, A. R.; PINHEIRO, R.; WANGINIAC, T. C. R. Proposta de manejo de *Araucaria angustifolia* utilizando o quociente de Liocourt e análise de incremento, em propriedade rural no Município de Lages, Santa Catarina. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 30, n. 64, p. 337-345, 2010.

HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: A review. **Carbohydrate Polymers**, 45, p. 253-267, 2001.



HOOVER, R.; SOSULSKI, F. W. Composition, structure, functionality and chemical modification of legume starches: a review. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v.69, p. 79-72, 1991.

ILO, S.; BERGHOFER, E. Kinetics of colour changes during extrusion cooking of maize grits. **Journal of Food Engineering**, v. 39, n. 1, p. 73-80, 1999.

ILO, S.; LIU, Y.; BERGHOFER, E. Extrusion cooking of rice flour with amaranth blends. **LWT**, v. 32, p. 79-88, 1999.

IONASHIRO, M. **Fundamentos de Termogravimetria e Análise térmica Diferencial/Calorimetria Exploratória Diferencial**. 1ª ed. São Paulo: Giz, 2005.

IPEF - Identificação de Espécies Florestais. **A espécie *Araucaria angustifolia***, Piracicaba, 2003. Disponível em <<http://www.ipef.br>>. Acesso em: 22/04/2013.

JANE, J. Current understanding on starch granule structure. **Journal of Applied Glycoscience**, v. 53, n. 3, p. 205-213, 2006.

JANE, J.; CHEN, Y. Y.; LEE, L. F.; MCPHERSON, A. E.; WONG, K. S.; RADOSAVLJEVIC, M.; KASEMSUWAN, T. Effects of amylose branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch. **Cereal Chemistry**, v.76, n.5, p.629-637, 1999.

JANE, J.; CHEN, J. F. Effect of amylose molecular size and amylopectin branch chain length on paste properties of starch. **Cereal Chemistry**, 69, p. 60–65, 1992.

JIANG, H.; CAMPBELL, M.; BLANCO, M.; JANE, J. Characterization of maize amylose-extender (ae) mutant starches: Part II. Structures and properties of starch residues remaining after enzymatic hydrolysis at boiling-water temperature. **Carbohydrate Polymers**, 80, p. 1-12, 2010.

JOZINOVIC, A.; ŠUBARIC, D.; ACKAR D.; BABIC, J.; PLANINIC, M.; PAVOKOVIC, M.; BLAŽIC, M. Effect of screw configuration, moisture content and particle size of corn grits on properties of extrudates. **Journal Food Science Technology**, 4 (2), p. 95-101, 2012.

JULIANO, B. O. A simplified assay for milled-rice amylose. **Cereal Science Today**, v. 16, n. 10, p. 334-340, 1971.

KAUR, L.; SINGH, N.; SINGH, S. N. Some properties of potatoes and their starches. II. Morphological, thermal and rheological properties of starches. **Food Chem.** 79, p. 183–192, 2002.

KLEIN, B.; PINTO, V. Z.; VANIER, N. L.; ZAVAREZE, E. da R.; COLUSSI, R.; EVANGELHO, J. A. do; GUTKOSKI, L. C.; DIAS, A. R. G. Effect of single and dual heat-moisture treatments on properties of rice, cassava, and pinhão starches. **Carbohydrate Polymers**, 98, p. 1578-1584, 2013.

KOCH, Z.; CORRÊA, M. C. **Araucária: a floresta do Brasil Meridional**. 2. ed. Curitiba: Olhar Brasileiro, 2010.

KOSTANSKI, L. K.; KELLER, D. M.; HAMIELEC, A. E. Size-exclusion chromatography - a review of calibration methodologies. **J Biochem Biophys Meth**, 58, p. 159–186, 2004.

KRÜGEL, E. **Reflorestar é preservar**. Florianópolis: Souza Cruz, 46 p. 1992.

KUSUMAYANTI, H.; HANDAYANI, N. A.; SANTOSA, H. Swelling power and water solubility of cassava and sweet potatoes flour. **Procedia Environmental Sciences**, 23, p. 164-167, 2015.

LAJOLO, F. M.; MENEZES, E. W. **Carboidratos en alimentos regionales Iberoamericanos**. São Paulo: EDUSP, 646 p. 2006.

LAWAL, O. S.; ADEBOWALE, K. O. Physicochemical characteristics and thermal properties of chemically modified jack bean (*Canavalia ensiformis*) starch. **Carbohydrate Polymers**, 60, p. 331–341, 2005.

LEONEL, M. Análise da forma e tamanho de grânulos de amidos de diferentes fontes botânicas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 27(3), p. 579-588, jul.-set. 2007.

LEONEL, M.; SOUZA, L. B.; MISCHAN, M. M. Produção de *snacks* extrusados à base de polvilho doce e fibra de laranja. **Ciência Rural**, v.40, n.6, p. 1411-1417, 2010.

LEONEL, M.; MISCHAN, M. M.; DUARTE FILHO, J.; LEONEL, S. Efeito de parâmetros de extrusão sobre as propriedades físicas de extrusados de banana e mandioca. **Publ. UEPG Ci. Exatas Terra, Ci. Agr. Eng.**, 14 (1), p. 51-58, abr. 2008.

LI, L.; JIANG, H.; CAMPBELL, M.; BLANCO, M.; JANE, J. Characterization of maize amylose-extender (ae) mutant starches. Part I: Relationship between resistant starch contents and molecular structures. **Carbohydrate Polymers**, 74, pág. 396-404, 2008.

LIMA, B. N. B.; CABRAL, T. B.; NETO, R. P. C.; TAVARES, M. I. B.; PIERUCCI, A. P. T. Estudo do amido de farinhas comerciais comestíveis. **Polímeros**, vol.22, n.5, p.486-490, 2012.

LUSTOSA, B. H. B.; LEONEL, M. Desenvolvimento de misturas instantâneas de mandioca e caseína: efeito do teor de proteína e parâmetros de extrusão sobre a viscosidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 30(3), p. 693-699, jul.-set. 2010.

MACFIE, H. J.; BRATCHELL, N.; GREENHOFF, K; VALLIS, L. V. Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. **Journal of Sensory Studies**, 4, p. 129-148, 1989.

MAHASUKHONTHACHAT, K.; SOPADE, P. A.; GIDLEY, M. J. Kinetics of starch digestion and functional properties of twinscrew extruded sorghum. **Journal of Cereal Science**, 51, p. 392– 401, 2010.

MANTOVANI, A.; MORELLATO, L. P. C.; REIS, M. S. Fenologia reprodutiva e produção de sementes em *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 27, n. 4, p. 787-796, 2004.

MATTOS, J. P. **O pinheiro brasileiro**. Lages, 2. ed. 223 p. 1994.

MCPHERSON, A. E.; JANE, J. Comparison of waxy potato with other root and tuber starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 40, n. 1, p. 57-70, 1999.

MEGAZYME. **D-Glucose Assay Procedure (GOPOD-Format)**. K-GLUC 07/11. Megazyme International Ireland Limited, 2011a.

MEGAZYME. **Total Starch Assay Procedure**. K-TSTA 07/11. AOAC Method 996.11. AACC Method 76.13. Megazyme International Ireland Limited, 2011b.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 3 ed. New York: CRC, 281 p. 1999.

MERCIER, C.; LINKO, P.; HARPER, J. M. **Extrusion cooking**, (2nd ed.), Saint Paul: American Association of Cereal Chemists, 1998.

MOHSENIN, N. N. **Physical properties of plant and animal materials**. Nova Iorque: Gordon and Breach Science, 2 ed., 734 p. 1986.

MORELL, M. K.; SAMUEL, M. S.; O'SHEA, M. G. Analysis of starch structure using fluorophore-assisted carbohydrate electrophoresis. **Electrophoresis**, 19, p. 2603-2611, 1998.

MOORE, S. A.; AI, Y.; CHANG, F.; JANE, J. Effects of alpha-amylase reaction mechanisms on analysis of resistant-starch contents. **Carbohydrate Polymers**, v. 115, p. 465-471, 2015.

MUCCILLO, R. C. S. T. **Caracterização e avaliação de amido nativo e modificado de pinhão mediante provas funcionais e térmicas**. 156 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

NARA, S.; KOMIYA, T. Studies on the relationship between water-saturated state and crystallinity by the diffraction method for moistened potato starch. **Starch/Stärke**, v. 35, p. 407-410, 1983.

NASCIMENTO, E. M. G. C. do; CARVALHO, C. W. P. de; TAKEITI, C. Y.; FREITAS D. D. G. C.; ASCHERI, J. L. R. Use of sesame oil cake (*Sesamum indicum* L.) on corn expanded extrudates. **Food Research International**, v. 45, p. 434–443, 2012.

NEWPORT SCIENTIFIC. **Instruction Manual for the Series 4 Rapid Visco Analyzer**. Australia: Newport Scientific Pty. Ltd., 1998.

OLIVEIRA, P. R. de. Aplicações de Calorimetria Exploratória Diferencial. Toledo, 2011. Disponível em: [http://www.fasul.edu.br/pasta\\_professor/arquivos/54/8336\\_aplicacoes\\_dsc\\_\\_28-06.pdf](http://www.fasul.edu.br/pasta_professor/arquivos/54/8336_aplicacoes_dsc__28-06.pdf). Acesso em: 11 jun. 2013.

PADMANABHAN, B. Understanding the extruder processing zone: the heart of a twin screw extruder. **Plastics, Additives and Compounding**, v. 10, n. 2, p. 30–35, 2008.

PAREDES-LÓPEZ, O.; BELLO-PÉREZ, L. A.; LÓPEZ, M. G. Amylopectin: structural, gelatinization and retrogradation studies. **Food Chemistry**, v. 50, 411–417, 1994.

PARK, I. M.; IBÁÑEZ, A. M.; ZHONG, F.; SHOEMAKER, C. F. Gelatinization and Pasting Properties of Waxy and Non-waxy Rice Starches. **Starch/Stärke**, v. 59(8), p. 388-396, 2007.

PARKER, R.; RING, S. G. Aspects of the physical chemical of starch. **Journal of Cereal Science**, v. 34, p. 1-17, 2001.

PEREDA, J. A. O.; RODRÍGUEZ, M. I.C .; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F.; PERALES, L. H.; CORTECERO, M. D. S. **Tecnologia de Alimentos**. Porto Alegre: Artmed, v. 2, 279 p. 2005.

PERERA, C.; HOOVER, R. Influence of hydroxypropylation on retrogradation properties of native, defatted and heat-moisture treated potato starches. **Food Chemistry**, 64, p. 361–375, 1999.

PEREIRA, K. D. Amido resistente, a última geração no controle de energia e digestão saudável. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 27(supl.), p. 88-92, 2007.

PHILLIPS, J.; MUIR, J. G.; BIRKETT, A.; LU, Z. X.; JONES, G. P.; O'DEA, K.; YOUNG, G. P. Effect of resistant starch on fecal bulk and fermentation-dependent events in humans. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 62, p. 121-130, 1995.

PINTO, V. Z.; VANIER, N. L.; KLEIN, B.; ZAVAREZE, E. da R.; ELIAS, M. C.; GUTKOSKI, L. C.; HELBIG, E.; DIAS, A. R. G. Physicochemical, crystallinity, pasting and thermal properties of heat-moisture-treated *pinhão* starch. **Starch/Stärke**, 64, p. 855–863, 2012.

QUEIROZ, M. I.; TREPTOW, R. O. **Análise sensorial para a avaliação da qualidade de alimentos**. Rio Grande: Editora da FURG, 2006.

RADOSAVLJEVIC, M.; JANE, J.; JOHNSON, L.A. Isolation of amaranth starch by diluted alkaline-protease treatment. **Cereal Chemistry**, v.75, n.2, p.212-216, 1998.

RAMOS, D. P.; LEONEL, M.; LEONEL, S. Amido resistente em farinhas de banana verde. **Alim. Nutr.**, v. 20, n. 3, p. 479-483, jul./set., 2009.

RAMOS, L. P.; SILVA, L. da; BALLEM, A. C.; PITARELO, A. P.; CHIARELLO, L. M.; SILVEIRA, M. H. L. Enzymatic hydrolysis of steam-exploded sugarcane bagasse using high total solids and low enzyme loadings. **Bioresource Technology**, 175, p. 195–202, 2015.

REIS, R. C.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, J. C. S.; MINIM, V. P. R. Mapa de preferência. In: MINIM, V. P. R. **Análise Sensorial: estudos com consumidores**. Viçosa: Editora UFV, p. 111-126, 2006.

ROCHA, T. S. Características Estruturais de Amidos de Diferentes Fontes Botânicas. In: XXI CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, Belo Horizonte. **Anais...**, 2008.

ROCHA, T. S.; CUNHA, V. A. G.; JANE, J.; FRANCO, C. M. L. Structural characterization of Peruvian carrot (*Arracacia xanthorrhiza*) starch and the effect of annealing on its semicrystalline structure. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 59, p. 4208–4216, 2011.

RYU, G. H.; NG, P. K. W. Effects of selected process parameters on expansion and mechanical properties of wheat flour and whole cornmeal extrudates. **Starch/Stärke**, v. 53, n. 3-4, p. 147-154, 2001.

SAJILATA, M. G.; SINGHAL, R. S.; KULKARNI, P. R. Resistant starch – a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 5, n. 1, p. 1-17, 2006.

SANTOS, A. J. dos; CORSO, N. M.; MARTINS, G.; BITTENCOURT, E Aspectos produtivos e comerciais do pinhão no Estado do Paraná. **Floresta**, v.32, n.2, p.163-169, 2002.

SANTOS, J. C.; SILVA, G. F.; SANTOS, J. A. B.; OLIVEIRA JUNIOR, A. M. Processamento e avaliação da estabilidade da farinha de banana verde. **Exacta**, v. 8, n. 2, p. 219-224, 2010.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; CANAVES, E. Requisitos **de conservação de alimentos em embalagens flexíveis**. Campinas: CETEA/ITAL, 2001, 213 p.

SCHOCH, T. J. **Swelling power and solubility of granular starches**. In R. L. Whistler (Ed.), *Methods in carbohydrate chemistry*. New York: Academic Press, 1964.

SEAB/DERAL – Secretaria da Agricultura e Abastecimento/Departamento de Economia Rural. **Boletim do Pinhão**. Estado do Paraná, 2014.

SETIAWAN, S.; WIDJAJA, H.; RAKPHONGPHAIROJ, V.; JANE, J. Effects of drying conditions of corn kernels and storage at an elevated humidity on starch structures and properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 58, p. 12260–12267, 2010.

SHARMA, S.; SINGH, N.; SINGH, B. Effect of extrusion on morphology, structural, functional properties and in vitro digestibility of corn, field pea and kidney bean starches. **Starch/Stärke**, 67, p. 1-8, 2015.

SILVA, C. V.; REIS, M. S. Produção de pinhão na região de Caçador, SC: aspectos da obtenção e sua importância para comunidades locais. **Ciência Florestal**, v. 19, n. 4, p. 363-374, 2009.

SILVA, E. M. M. da; ASCHERI, J. L. R.; ASCHERI, D. P. R.; TEBA, C. da S. Efeito da extrusão termoplástica nas características de viscosidade de pasta, solubilidade e absorção de água de farinhas pré-gelatinizadas de amilho e feijão carioca (brs pontal). **B. CEPPA**, Curitiba, v. 31, n. 1, p. 99-114, jan./jun. 2013.

SINGH, J.; KAUR, L.; MCCARTHY, O. J. Factors influencing the physic-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications – A review. **Food Hydrocolloids**, n. 1, v. 21, p. 1-22, 2007.

SINGH, J.; MCCARTHY, O. J.; SINGH, H. Physico-chemical and morphological characteristics of New Zealand Taewa (*Maori potato*) starches. **Carbohydrate Polymers**, 64, p. 569–581, 2006.

SINGH, N.; KAUR, L.; SANDHU, K. S.; KAUR, J.; NISHINAR, K. Relationships between physicochemical, morphological, thermal, rheological properties of rice starches. **Food Hydrocolloids**, n. 20, p. 532–542, 2006b.

SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N. S.; GILL, B. S. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v. 81, n. 2, p. 219-231, 2003.

SMITH, A. M. The biosynthesis of the starch granule. **Biomacromolecules**, n. 2, p. 335–341, 2001.

SOARES, T. S.; MOTTA, J. H. Araucária – O pinheiro brasileiro. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**. Ano 2, n. 3., fev., 2004.

SOLÓRZANO, J. W. V. **Obtenção e caracterização de farinha extrudada de diferentes genótipos de sorgo para o desenvolvimento de biscoitos doces**. 114 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

SOLÓRZANO-FILHO, J. A.; KRAUS, J. E. Breve história das matas de Araucária. **Revista Forest**, n. 99, p. 37-40, 1999.

SONG, Y.; JANE, J. Characterization of barley starches of waxy, normal, and high amylose varieties. **Carbohydrate Polymers**, v. 41, p. 365-377, 2000.

SPADA, J. C.; MARCZAK, L. D. F.; TESSARO, I. C.; NOREÑA, C. Z. P. **Uso do amido de pinhão como agente encapsulante**. IX Oktoberforum. PPGEQ, Porto Alegre, 2010.

STAHL, J. A.; LOBATO, L. P.; BOCHI, V. C.; KUBOTA, E. H.; GUTKOSKI, L. C.; EMANUELLI, T. Physicochemical properties of Pinhão (*Araucaria angustifolia*, Bert, O. Ktze) starch phosphates. **LWT**, v. 40, p. 1206-1214, 2007.

STANLEY, D. W. Chemical and structural determinants of texture of fabricated foods. **Food Technology**, v. 40, n. 3, p. 65-68, 1986.

TAKEDA, Y.; HIZUKURI, S. Structure of branched molecules of amyloses of various origins and molar fractions of branched and unbranched molecules. **Carbohydrate Research**, 165, p. 139-145, 1987.

TAKEDA, Y.; TOMOOKA, S.; HIZUKURI, S. Structures of branched and linear-molecules of rice amylose. **Carbohydrate Research**, p. 246-267, 1993.

TEBA, C. da S.; ASCHERI, J. L. R.; CARVALHO, C. W. P. de. Efeito dos parâmetros de extrusão sobre as propriedades de pasta de massas alimentícias pré-cozidas de arroz e feijão. **Alim. Nutr.**, v. 20, n. 3, p. 411-426., jul./set., 2009.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch-composition, fine structure and architecture. **Journal Cereal Chemistry**, 39, p. 151-165, 2004.

THEMEIER, H.; HOLLMANN, J.; NEESE, U.; LINDHAUER, M. G. Structural and morphological factors influencing the quantification of resistant starch II in starches of different botanical origin. **Carbohydrate Polymers**, v 61, n. 01, p. 72-79, 2005.

THITIPRAPHUNKUL, K.; UTTAPAP, D.; PIYACHOMKWAN, K.; TAKEDA, Y. A comparative study of edible canna (*Canna edulis*) starch from different cultivars. Part I. Chemical composition and physicochemical properties. **Carbohydrate Polymers**, 53, p. 317-324, 2003.

THOMAS, D. J.; ATWELL, W. A. **Starches**. Saint Paul: Zagan Press (Zagan Press Handbook Series), 1997.

TORRES, L. L. G.; EL-DASH, A. A.; CARVALHO, C. W. P.; ASCHERI, J. L. R.; GERMANI, R.; MIGUEZ, M. Efeito da umidade e da temperatura no processamento de farinha de banana verde (*Musa acuminata*, grupo AAA) por extrusão termoplástica. **B. CEPPA**, Curitiba, v. 23, n. 2, p. 273-290, jul./dez. 2005.

TROMBINI, F. R. M.; LEONEL, M.; MISCHAN, M. M. Desenvolvimento de *snacks* extrusados a partir de misturas de farinha de soja, fécula e farelo de mandioca. **Ciência Rural**, 43(1), p. 178-184, 2013.

VANDEPUTTE, G. E.; VERMEYLEN, R.; GEEROMS, J.; DELCOUR, J. A. Rice starches. I. Structural aspects provide insight into crystallinity characteristics and gelatinisation behaviour of granular starch. **Journal of Cereal Science**, 38, 43-52, 2003.

WANG, J.; JING, Z.; YUAN, X. Preparation of resistant starch from starch-guar gum extrudates and their properties. **Food Chemistry**, London, v. 101, n. 1, p. 20-25, 2007.

WATERSCHOOT, J.; GOMAND, S. V.; FIERENS, E.; DELCOUR, J. A. Production, structure, physicochemical and functional properties of maize, cassava, wheat, potato and rice starches. **Starch/Stärke**, 67, issue 1-2, p. 14-29, 2015.

WILLETT, J. L.; MILLARD, M. M.; JASBERG, B. K. Extrusion of waxy maize starch: melt rheology and molecular weight degradation of amylopectin. **Polymer**, v. 38, n. 24, p. 5983-5989, 1997.

WOSIACKI, G.; CEREDA, M. P. Characterization of Pinhão Starch. Part I. Extration and Properties of Starch Granules. **Starch/Stärke**, v.37, p. 224 – 227, 1985.

WOSIACKI, G.; CEREDA, M. P. Characterization of pinhão starch. Part III. Hydration of the granules and susceptibility to enzymatic hydrolysis. **Starch/Stärke**, 41, p. 327–330, 1989.

WU, H. C.; SARKO, A. The double helical molecular structure of crystalline-A amylose. **Carbohydrate Research**, 61:7. 1978.

XLSTAT-Sensory. NY. USA: Addinsoft Inst. Inc, 2014.

YACU, W. Process instrumentation and control in food extruders. **Cereal Foods World**, n. 35, n. 9, p. 919-926, 1990.

YOO, S. H.; JANE, J. Molecular weights and gyration radii of amylopectins determined by high-performance size-exclusion chromatography equipped with multi-angle laser-light scattering and refractive index detectors. **Carbohydrate Polymers**, 49(3), p. 307–314, 2002a.

YOO, S. H.; JANE, J. Structural and physical characteristics of waxy and other wheat starches. **Carbohydrate Polymers**, 49, p. 297–305, 2002b.

YUAN, R.; THOMPSON, C. D.; BOYER, B. C. D. The fine structure of amylopectin in relation to gelatinization and retrogradation behavior of maize starches from three wx-containing genotypes in two inbred lines. **Cereal Chemistry** 70, p. 81–89, 1993.

ZOBEL, H. F. Molecules to granules: A comprehensive starch review. **Starch/Stärke**, 40, p. 44–50, 1988.

ZOBEL, H. F. X-ray analysis of starch granules. In: **Methods in carbohydrates chemistry**. New York: Academic Press, p.109-143, 1964.

ZANETTE, F. **A araucária como fruteira para a produção de pinhões**. (Série Frutas Nativas). Jaboticabal: Funep, 2010.

ZAVAREZE, A. R.; RODRIGUES, A. O.; STORCK, C. R.; ASSIS, L. M.; WALLY, A.P. S.; DIAS, A. R. G. Poder de inchamento e solubilidade de amido de arroz submetido ao tratamento térmico com baixa umidade. **Brazilian Journal of Food Technology**, II SSA, janeiro, 2009.



ZHANG, G.; AO, Z.; HAMAKER, B. R. Slow digestion property of native cereal starches. **Biomacromolecules**, 7, p. 3252-3258, 2006.

ZHANG, G.; AO, Z.; HAMAKER, B. R. Nutritional property of endosperm starches from maize mutants: a parabolic relationship between slowly digestible starch and amylopectin fine structure. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 56, 4686-4694, 2008.

ZHANG, G.; SOFYAN, M.; HAMAKER, B. R. Slowly Digestible State of Starch: Mechanism of Slow Digestion Property of Gelatinized Maize Starch. **Journal Agricultural Food Chemistry**, 56, 4695–4702, 2008.

ZHANG, W.; BI, J.; YAN, X.; WANG, H.; ZHU, C.; WANG, J; WAN, J. In vitro measurement of resistant starch of cooked milled rice and physico-chemical characteristics affecting its formation. **Food Chemistry**, 105, p. 462-468, 2007.

ZHANG, W.; HOSENEY, R. C. Factors affecting expansion of corn meals with poor and good expansion properties. **Cereal Chemistry**, v. 75, p. 639-643, 1998.

## APÊNDICE 1 – FICHAS DE AVALIAÇÃO

Nome: \_\_\_\_\_ Proveedor n°: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Sexo: M ( ) F ( )

Idade: ( ) 18 a 25 anos ( ) 26 a 35 anos ( ) 36 a 45 anos ( ) >46 anos

Nível de instrução:

- ( ) Primário completo  
( ) Secundário incompleto  
( ) Secundário completo  
( ) Superior incompleto  
( ) Superior completo  
( ) Pós-graduação

Você consome pinhão?

Sim ( ) Não ( )

Você consome *snacks* (salgadinho expandido)?

Sim ( ) Não ( )

Com que frequência você consome *snacks* (salgadinho expandido)?

- ( ) Uma vez por dia  
( ) 2 a 5 vezes por dia  
( ) Uma vez na semana  
( ) 2 a 5 vezes na semana  
( ) A cada 15 dias  
( ) Uma vez ao mês  
( ) Outro

Você possui alguma alergia relacionada à ingestão de alimentos?

Sim ( ) Não ( )

Indique \_\_\_\_\_

Você tem algum problema de saúde?

Sim ( ) Não ( )

Indique \_\_\_\_\_

Você apresenta diabetes?

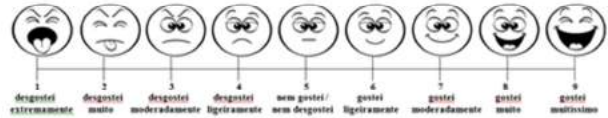
Sim ( ) Não ( )

Você tem alguma restrição à ingestão de salgadinho expandido?

Sim ( ) Não ( )

### TESTE DE ACEITAÇÃO – ESCALA HEDONICA

01) Você está recebendo seis amostras codificadas de salgadinho de pinhão. Avalie da esquerda para a direita cada amostra com relação a cada atributo utilizando a escala abaixo (de 1 a 9):



AMOSTRA	COR	AROMA	SABOR	TEXTURA	ACEITAÇÃO GLOBAL

Comentários: \_\_\_\_\_

02) Você detectou o sabor de pinhão em quais amostras? \_\_\_\_\_

### TESTE DE INTENÇÃO DE COMPRA

03) Você compraria o produto?

Sim ( ) Não ( )

04) Se sim, qual amostra compraria?

Amostra de código nº \_\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_ Proveedor n°: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Sexo: M ( ) F ( )

Idade: ( ) 18 a 25 anos ( ) 26 a 35 anos ( ) 36 a 45 anos ( ) >46 anos

Nível de instrução:

- ( ) Primário completo  
( ) Secundário incompleto  
( ) Secundário completo  
( ) Superior incompleto  
( ) Superior completo  
( ) Pós-graduação

Você consome pinhão?

Sim ( ) Não ( )

Você consome *snacks* (salgadinho expandido)?

Sim ( ) Não ( )

Com que frequência você consome *snacks* (salgadinho expandido)?

- ( ) Uma vez por dia  
( ) 2 a 5 vezes por dia  
( ) Uma vez na semana  
( ) 2 a 5 vezes na semana  
( ) A cada 15 dias  
( ) Uma vez ao mês  
( ) Outro

Você possui alguma alergia relacionada à ingestão de alimentos?

Sim ( ) Não ( )

Indique \_\_\_\_\_

Você tem algum problema de saúde?

Sim ( ) Não ( )

Indique \_\_\_\_\_

Você apresenta diabetes?

Sim ( ) Não ( )

Você tem alguma restrição à ingestão de salgadinho expandido?

Sim ( ) Não ( )

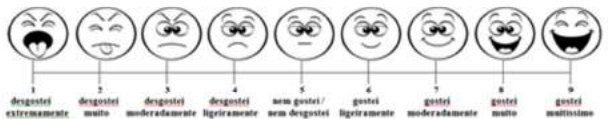
Você tem alguma preferência de sabor de *snacks* (salgadinho expandido)?

Sim ( ) Não ( )

Indique \_\_\_\_\_

### TESTE DE ACEITAÇÃO – ESCALA HEDONICA

01) Você está recebendo seis amostras codificadas de salgadinho de pinhão com sabores diferentes. Avalie da esquerda para a direita cada amostra com relação a cada atributo utilizando a escala abaixo (de 1 a 9):



AMOSTRA	COR	AROMA	SABOR	TEXTURA	ACEITAÇÃO GLOBAL

Comentários: \_\_\_\_\_

02) Você detectou o sabor de pinhão em quais amostras? \_\_\_\_\_

### TESTE DE INTENÇÃO DE COMPRA

03) Você compraria o produto?

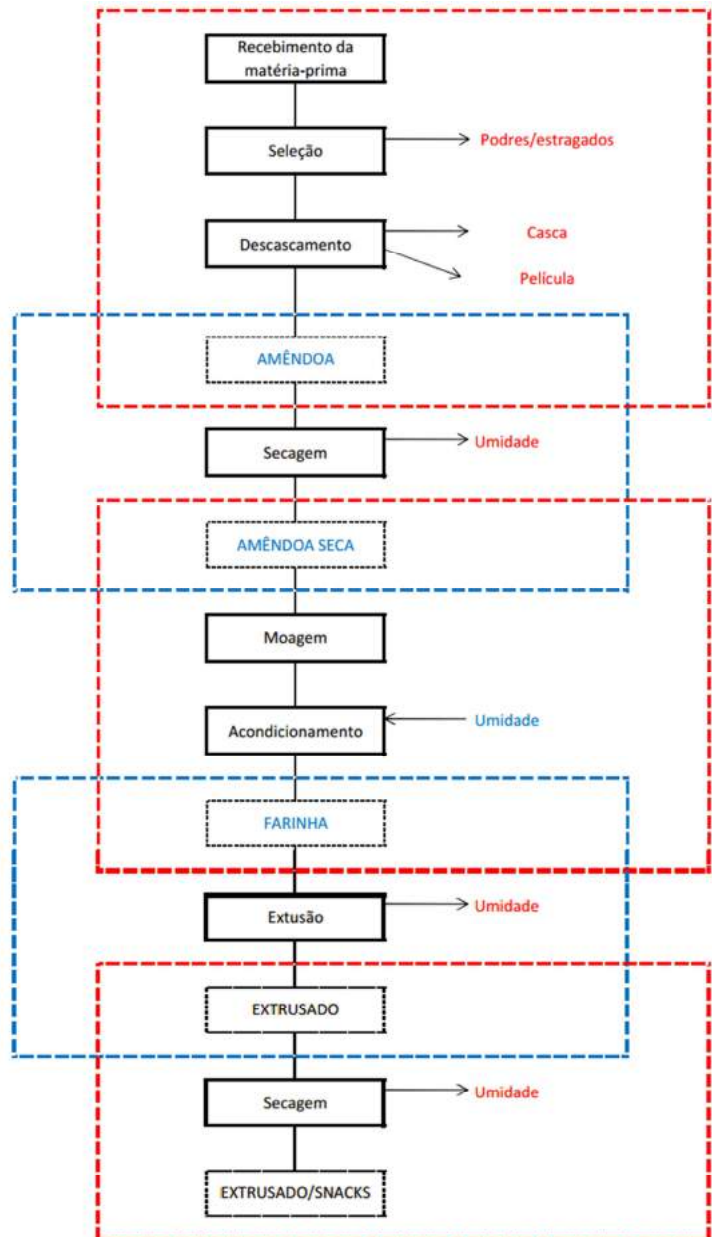
Sim ( ) Não ( )

04) Se sim, qual(is) amostra(s) compraria?

Amostra(s) de código nº \_\_\_\_\_

## APÊNDICE 2 – BALANÇO DE MASSA

	TOTAL	MASSA SECA	UMIDADE	PROCESSO
g	1000			
%	100			
g	149,6			
%	14,96			
g	213,4			
%	21,34			
g	15,2			
%	1,52			
g	621,8	351,50354	270,2965	
%	62,18	56,53	43,47	
g			210,6847	
%			100	28,97
g	411,1	351,50354	59,61171	
%	100	85,5	14,5	
g			17,5476	
%			100	3,5
g	428,7	351,50354	77,15931	
%	100	82	18	
g			34,86548	
%			100	7,26
g	393,8	351,50354	42,29384	
%	100	89,26	10,74	
g			17,33434	
%			100	4,11
g	376,5	351,50354	24,9595	
%	100	93,37	6,63	



## ANEXO 1 – TCLE

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, Manoela Estefânea Boff Zortéa Guidolin, pesquisadora da Universidade Federal do Paraná, estou convidando você da comunidade da UFPR a participar de um estudo intitulado "Desenvolvimento de produtos alimentícios à base de pinhão" realizando um teste de visualização e degustação de *snacks* formulados com pinhão para avaliar suas características. Esta pesquisa está sendo realizada visando à busca de alternativas na utilização de pinhão.

- a) O objetivo desta pesquisa é desenvolver *snacks* e investigar a aceitação de um produto novo no mercado à base da semente da Araucária, o pinhão (*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze) através de uma equipe de consumidores.
- b) Caso você participe da pesquisa, será necessário que compareça a uma sessão no Laboratório de Análise Sensorial, Usina Piloto B, do PPGEAL (Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos) no Campus Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná (Rua Francisco H. dos Santos, S/No., bairro Jardim das Américas) para participar da avaliação da aceitabilidade desses produtos novos à base de pinhão. A sessão poderá ser realizada entre os dias **17 a 21/03 de 2014**, nos períodos das 9:30 às 11:00 e das 14:00 às 17:00.
- c) Para tanto você deverá comparecer no Laboratório de Análise Sensorial, Usina Piloto B, do PPGEAL da UFPR para participar da avaliação da aceitabilidade desses produtos novos à base de pinhão. Nesta sessão serão avaliadas amostras de *snacks*, e a sessão terá duração de aproximadamente trinta minutos.
- d) Se for alérgico a algum aromatizante como cinamato (canela), anetol (alcaçuz), baunilha, eugenol (cravo), mentol, ácido glutâmico (E620), glutamato monoamônico (E624), ácido guanílico (E626), guanilato de cálcio (E629), ácido inosínico (E630), inosinato de cálcio (E633) é possível que você apresente algum desconforto.
- e) Não estão previstos riscos relacionados ao produto exceto no caso de você apresentar alergia a algum dos aromatizantes listados no item "d" e, desconhecendo fato, participar do estudo. É possível ainda que sinta leve desconforto apenas por provar mais de uma amostra do produto.
- f) Os benefícios esperados com essa pesquisa são: identificar um produto novo no mercado à base de pinhão, quanto sua aceitação pelo mercado consumidor, relacionando suas características físicas com sensoriais. No entanto, nem sempre você será diretamente beneficiado com o resultado da pesquisa, mas poderá contribuir para o avanço científico.
- g) As pesquisadoras, Manoela Estefânea Boff Zortéa, aluna do curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná, telefone (41)9887-6009, e-mail: manozortea@yahoo.com e a Profª. Drª. Agnes de Paula Scheer, tel: (41)3361-3389, e-mail: agnesps@gmail.com responsáveis por este estudo poderão ser contatados na Usina Piloto B do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da UFPR, das 07:30 às 11:30 e das 13:30 às 17:30 de segunda à sexta para esclarecer eventuais dúvidas que você possa ter e fornecer-lhe as informações que queira, antes, durante ou depois de encerrado o estudo.
- h) A sua participação neste estudo é voluntária e se você não quiser mais fazer parte da pesquisa poderá desistir a qualquer momento e solicitar que lhe devolvam o termo de consentimento livre e esclarecido assinado.
- i) As informações relacionadas ao estudo poderão ser conhecidas pelos pesquisadores. No entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada, para que a sua identidade seja preservada e seja mantida a confidencialidade.
- j) As despesas necessárias para a realização da pesquisa não são de sua responsabilidade e pela sua participação no estudo você não receberá qualquer valor em dinheiro. Como membro da Comunidade da UFPR (estudante, professor, colaborador), você terá a garantia de que problemas como: alergia decorrente do estudo serão assistidos pela Plus Santé (tel: (41)3342-2525) atendimento de emergência contratado pela UFPR para o atendimento em qualquer local dos Campi. Após havendo necessidade de atendimento médico posterior você poderá agendar consulta no Casa III (Centro Politécnico – tel: (41)3361-3066 ou (41)3361-3643) ou Casa IV (Agrárias – tel: (41)3350-5776 ou (41)3350-5777) no horário de atendimento das 07:00 às 18:00.
- k) Quando os resultados forem publicados, não aparecerá seu nome, e sim um código.

Eu, \_\_\_\_\_ li esse termo de consentimento e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual concordei em participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios do estudo. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento sem justificar minha decisão.

Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.

(Assinatura do participante da pesquisa ou responsável legal)

Curitiba, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Assinatura do Pesquisador

Comitê de ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da UFPR  
Rua Pe. Camargo, 280 – 2º andar – Alto da Glória – Curitiba-PR – CEP:80060-240  
Tel (41)3360-7259 - e-mail: cometica.saude@ufpr.br

